This is a digital copy of a book that was preserved for generations on library shelves before it was carefully scanned by Google as part of a project to make the world's books discoverable online.

It has survived long enough for the copyright to expire and the book to enter the public domain. A public domain book is one that was never subject to copyright or whose legal copyright term has expired. Whether a book is in the public domain may vary country to country. Public domain books are our gateways to the past, representing a wealth of history, culture and knowledge that's often difficult to discover.

Marks, notations and other marginalia present in the original volume will appear in this file - a reminder of this book's long journey from the publisher to a library and finally to you.

Usage guidelines

Google is proud to partner with libraries to digitize public domain materials and make them widely accessible. Public domain books belong to the public and we are merely their custodians. Nevertheless, this work is expensive, so in order to keep providing this resource, we have taken steps to prevent abuse by commercial parties, including placing technical restrictions on automated querying.

We also ask that you:

+ *Make non-commercial use of the files* We designed Google Book Search for use by individuals, and we request that you use these files for personal, non-commercial purposes.

+ *Refrain from automated querying* Do not send automated queries of any sort to Google's system: If you are conducting research on machine translation, optical character recognition or other areas where access to a large amount of text is helpful, please contact us. We encourage the use of public domain materials for these purposes and may be able to help.

+ *Maintain attribution* The Google "watermark" you see on each file is essential for informing people about this project and helping them find additional materials through Google Book Search. Please do not remove it.

+ *Keep it legal* Whatever your use, remember that you are responsible for ensuring that what you are doing is legal. Do not assume that just because we believe a book is in the public domain for users in the United States, that the work is also in the public domain for users in other countries. Whether a book is still in copyright varies from country to country, and we can't offer guidance on whether any specific use of any specific book is allowed. Please do not assume that a book's appearance in Google Book Search means it can be used in any manner anywhere in the world. Copyright infringement liability can be quite severe.

About Google Book Search

Google's mission is to organize the world's information and to make it universally accessible and useful. Google Book Search helps readers discover the world's books while helping authors and publishers reach new audiences. You can search through the full text of this book on the web at `http://books.google.com/`

Über dieses Buch

Dies ist ein digitales Exemplar eines Buches, das seit Generationen in den Regalen der Bibliotheken aufbewahrt wurde, bevor es von Google im Rahmen eines Projekts, mit dem die Bücher dieser Welt online verfügbar gemacht werden sollen, sorgfältig gescannt wurde.

Das Buch hat das Urheberrecht überdauert und kann nun öffentlich zugänglich gemacht werden. Ein öffentlich zugängliches Buch ist ein Buch, das niemals Urheberrechten unterlag oder bei dem die Schutzfrist des Urheberrechts abgelaufen ist. Ob ein Buch öffentlich zugänglich ist, kann von Land zu Land unterschiedlich sein. Öffentlich zugängliche Bücher sind unser Tor zur Vergangenheit und stellen ein geschichtliches, kulturelles und wissenschaftliches Vermögen dar, das häufig nur schwierig zu entdecken ist.

Gebrauchsspuren, Anmerkungen und andere Randbemerkungen, die im Originalband enthalten sind, finden sich auch in dieser Datei – eine Erinnerung an die lange Reise, die das Buch vom Verleger zu einer Bibliothek und weiter zu Ihnen hinter sich gebracht hat.

Nutzungsrichtlinien

Google ist stolz, mit Bibliotheken in partnerschaftlicher Zusammenarbeit öffentlich zugängliches Material zu digitalisieren und einer breiten Masse zugänglich zu machen. Öffentlich zugängliche Bücher gehören der Öffentlichkeit, und wir sind nur ihre Hüter. Nichtsdestotrotz ist diese Arbeit kostspielig. Um diese Ressource weiterhin zur Verfügung stellen zu können, haben wir Schritte unternommen, um den Missbrauch durch kommerzielle Parteien zu verhindern. Dazu gehören technische Einschränkungen für automatisierte Abfragen.

Wir bitten Sie um Einhaltung folgender Richtlinien:

+ *Nutzung der Dateien zu nichtkommerziellen Zwecken* Wir haben Google Buchsuche für Endanwender konzipiert und möchten, dass Sie diese Dateien nur für persönliche, nichtkommerzielle Zwecke verwenden.

+ *Keine automatisierten Abfragen* Senden Sie keine automatisierten Abfragen irgendwelcher Art an das Google-System. Wenn Sie Recherchen über maschinelle Übersetzung, optische Zeichenerkennung oder andere Bereiche durchführen, in denen der Zugang zu Text in großen Mengen nützlich ist, wenden Sie sich bitte an uns. Wir fördern die Nutzung des öffentlich zugänglichen Materials für diese Zwecke und können Ihnen unter Umständen helfen.

+ *Beibehaltung von Google-Markenelementen* Das "Wasserzeichen" von Google, das Sie in jeder Datei finden, ist wichtig zur Information über dieses Projekt und hilft den Anwendern weiteres Material über Google Buchsuche zu finden. Bitte entfernen Sie das Wasserzeichen nicht.

+ *Bewegen Sie sich innerhalb der Legalität* Unabhängig von Ihrem Verwendungszweck müssen Sie sich Ihrer Verantwortung bewusst sein, sicherzustellen, dass Ihre Nutzung legal ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass ein Buch, das nach unserem Dafürhalten für Nutzer in den USA öffentlich zugänglich ist, auch für Nutzer in anderen Ländern öffentlich zugänglich ist. Ob ein Buch noch dem Urheberrecht unterliegt, ist von Land zu Land verschieden. Wir können keine Beratung leisten, ob eine bestimmte Nutzung eines bestimmten Buches gesetzlich zulässig ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass das Erscheinen eines Buchs in Google Buchsuche bedeutet, dass es in jeder Form und überall auf der Welt verwendet werden kann. Eine Urheberrechtsverletzung kann schwerwiegende Folgen haben.

Über Google Buchsuche

Das Ziel von Google besteht darin, die weltweiten Informationen zu organisieren und allgemein nutzbar und zugänglich zu machen. Google Buchsuche hilft Lesern dabei, die Bücher dieser Welt zu entdecken, und unterstützt Autoren und Verleger dabei, neue Zielgruppen zu erreichen. Den gesamten Buchtext können Sie im Internet unter `http://books.google.com` durchsuchen.

COUNTWAY LIBRARY
HC 1H7K V

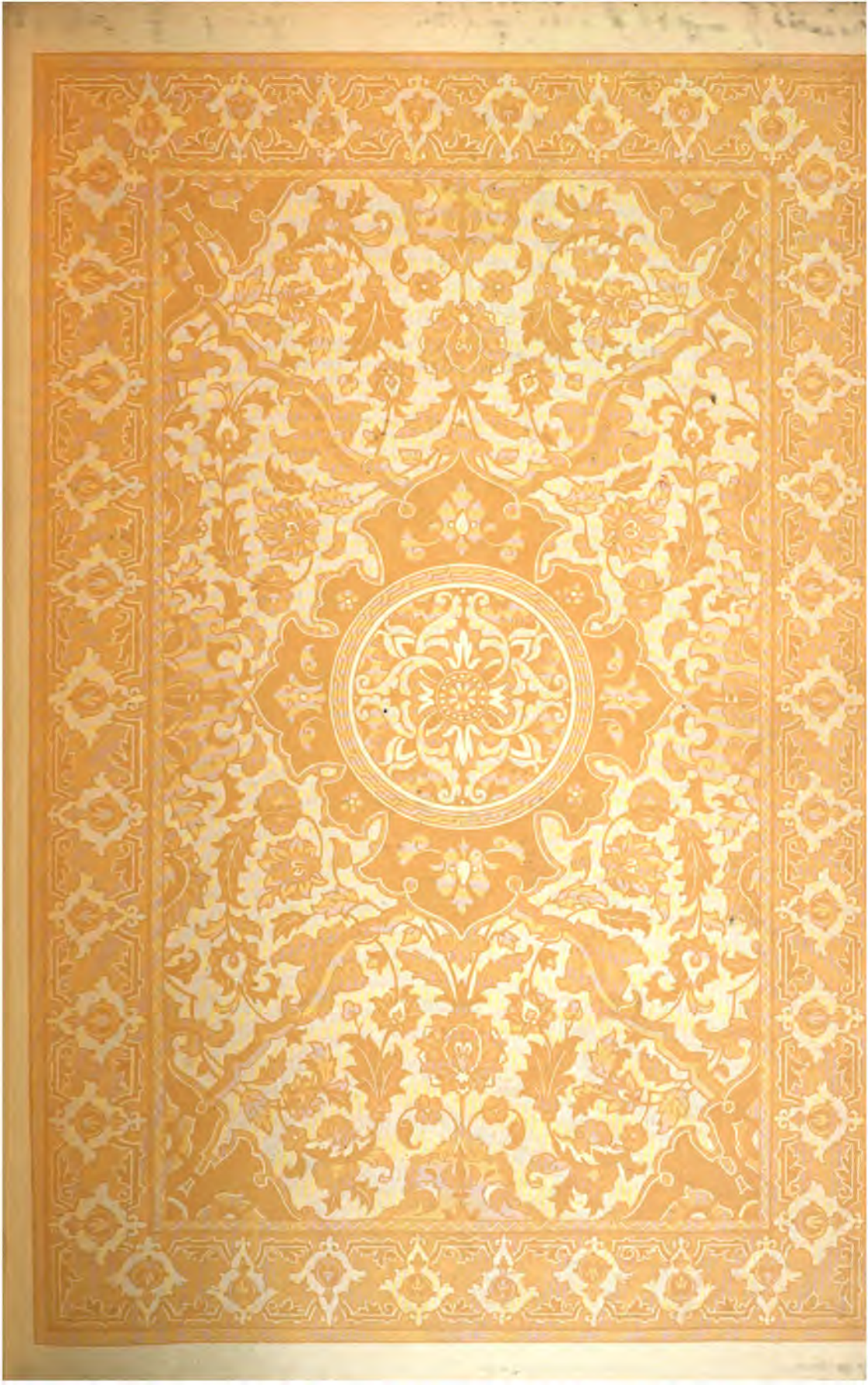
Dr. P. Lindner

Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben

Dritte Auflage

Verlagsbuchhandlung Paul Parey in Berlin

9.K.1901, 2
A



Mikroskopische Betriebskontrolle

in den

Gärungsgewerben

mit einer

Einführung in die technische Biologie, Hefenreinkultur und Infektionslehre.

Für Studierende und Praktiker bearbeitet

von

Prof. Dr. Paul Lindner,

Vorsteher der Abteilung für Reinkultur am Institut für Gärungsgewerbe, Berlin N. 65.

Dritte, neubearbeitete Auflage.

Mit 229 Textabbildungen und 4 Tafeln.

BERLIN.
VERLAGSBUCHHANDLUNG PAUL PAREY.
Verlag für Landwirtschaft, Gartenbau und Forstwesen.
SW., Hedemannstrasse 10.
1901.

9.K.1901.2

Alle Rechte vorbehalten; auch die Übersetzung in andere Sprachen.

Pierer'sche Hofbuchdruckerei Stephan Geibel & Co. in Altenburg.

Vorwort zur ersten Auflage.

Die mikroskopische Forschung ist für das Gärungsgewerbe in mehrfacher Hinsicht bedeutsam geworden: Indem sie uns die Organisation der Rohmaterialien und deren Veränderung bei der Verarbeitung kennen lehrte, brachte sie uns ein tieferes Verständnis für die hier auftretenden Prozesse; indem sie uns von der Existenz und den Erscheinungsformen der beim Gärprozefs beteiligten Organismen Kunde gab, ermöglichte sie uns eine ziemlich genaue Beurteilung der Reinheit der Gärungen; indem sie weiterhin geeignete Methoden schuf, nach denen die nützlichen Gärungserreger von den schädlichen getrennt und für sich allein zur Vermehrung gebracht werden konnten, gab sie der Gärungsführung eine sichere Grundlage und machte sie unabhängig von so vielen Zufälligkeiten, mit denen der Praktiker sonst bei dem Gebrauch eines seiner inneren Natur und seiner Zusammensetzung nach unbekannten Gärungserregers zu kämpfen hatte.

Der letztere Punkt war von besonderer Wichtigkeit. Es giebt heutzutage kaum noch Brauereien, deren Hefe man nicht als „von einer Reinzucht abstammend" bezeichnen könnte. Von den Brennereien und Prefshefenfabriken wird man das in nicht allzulanger Zeit auch sagen können. Diese schnelle Ausbreitung der Reinhefe ist aufser auf die guten Erfolge wesentlich darauf zurückzuführen, dafs das Arbeiten mit dieser Hefe in der Praxis, ebenso wie die Handhabung der Reinzuchtapparate, keine besonderen Kenntnisse und Fertigkeiten voraussetzt.

Nicht so ist es bei der Betriebskontrolle. Ohne Übung im Gebrauch des Mikroskops, ohne die zur Herstellung von Präparaten und Kulturen nötigen Vorkenntnisse läfst sich keine biologische Betriebskontrolle ausführen. Ist denn aber eine solche so dringend nötig? zumal jetzt, wo die Reinhefe eingeführt ist? Als ob nicht die Reinhefe selbst der Kontrolle bedürfe! van Laer verglich einmal die Reinzuchtapparate mit Pandorabüchsen, aus denen viel Unheil hervorgehen könne. Und in der That, wo die Gewifsheit fehlt, dafs die Hefe noch rein ist, hört für dergleichen Apparate die Berechtigung, Reinzuchtapparate zu heifsen, auf; sie sind dann lediglich Hefevermehrungsapparate, in denen die Hefe nicht einmal nach den Regeln der natürlichen Reinzucht vermehrt wird. Auch die „von Reinzucht abstammende" Hefe: ist sie nicht im Betrieb der Gefahr der Verunreinigung ausgesetzt? Wie lange soll man solche Hefe

führen? Hier findet das Mikroskop also immer noch seinen Platz. Nun besitzen eine grofse Anzahl Praktiker ja Mikroskope; weshalb wenden sie sie aber so wenig an? Etwa weil es auch ohne sie geht? oder weil es so unbequem ist, zu mikroskopieren? Der Grund liegt offenbar anderswo. Das mikroskopische Bild ist zu schwer zu entziffern. Gute und wilde Hefen sind sich zu ähnlich, in Gemischen oft nicht voneinander zu unterscheiden; wenigstens gehört dazu schon eine sehr lange Erfahrung und gute mikroskopische Schulung. Gelingt es aber, die Bilder der Hefen leicht unterscheidbar zu machen, dann wird der Praktiker mit Freuden das Mikroskop wieder anwenden.

In der Brennerei, wo es sich um die Unterscheidung weniger zwischen Hefe und Hefe, sondern zwischen Hefe und Bakterien handelt, da ist das Mikroskop immer in Benutzung geblieben; ebenso in den Prefshefenfabriken, die nach dem alten Verfahren arbeiteten. In den Prefshefenfabriken, die mit dem Lüftungsverfahren arbeiten, bei welchem das Auftreten von Kahmhefen oder anderen luftliebenden Hefen neben der eigentlichen Kulturhefe so sehr begünstigt wird, entstehen für den mikroskopierenden Praktiker wieder Schwierigkeiten. Hier ist ja wieder Hefe von Hefe zu unterscheiden. Nun, dieses Problem hat in einfachster Weise eine Lösung gefunden, die dem Praktiker nicht schwerer zugänglich ist, als etwa die Säurebestimmung in der Maische, oder der Stärkenachweis mittelst der Jodlösung. Schon elementare Kenntnisse in der Mikroskopie werden ausreichen, um wichtige Aufschlüsse über die Reinheit der Gärungen zu erhalten. Eine eigenartige Anwendung der Kultur im hängenden Tropfen, die „Tröpfchenkultur", wie sie Verfasser nennt, hat zur leichten Erkennung der wilden Hefen neben den Kulturhefen geführt. Diese Methode kann jeder Praktiker sich aneignen, und auch die Unterscheidung wird ihm nicht schwer fallen. Es kommt dazu, dafs keine zeitraubenden Vorkehrungen dazu getroffen zu werden brauchen. — Die mikroskopische Schulung des Praktikers ist aber nicht blofs aufzufassen als ein Studium, das lediglich in der biologischen Betriebskontrolle seinen einzigen Zweck sieht; die Beschäftigung mit dem Mikroskop soll auch die Beobachtungsgabe wecken und schärfen. Sie soll ihm ferner einen Einblick in die Lebensverhältnisse derjenigen niederen Pflanzen bringen, die er massenhaft züchtet. Die Brauer, Brenner und Prefshefenfabrikanten sind die gröfsten Pflanzenzüchter. In einem Gramm Hefe sind mehr Keime enthalten als in einem Fuder Getreide Körner, und wie oft wird nicht die Hefe im Gärungsbetriebe geerntet! Es versteht sich demnach von selbst, dafs der Praktiker auch mit den Elementen der Hefenkunde vertraut sein mufs.

Die Hefe ist denselben Gesetzen des Lebens unterworfen wie die anderen Pflanzen, nur wickeln sich bei ihr die einzelnen Vorgänge in einer etwas unscheinbaren Form ab. Wollen wir ein vielgestaltiges Bild des Lebens kennen lernen, dann werden wir gut thun, die Vegetation unserer Süfswässer unter das Mikroskop zu bringen. Hier bietet sich uns ein anziehendes Beobachtungsmaterial dar. Den zierlichen Bau der kleinen Pflänzchen und Tiere zu studieren, ihren oft wunderbaren Bewegungen und Beschäftigungen zuzuschauen, wird manchem eine reine Freude gewähren. Beim mikroskopischen Unterricht lassen sich aber bei diesem Kapitel auch reichlich Anknüpfungspunkte für allgemein naturwissenschaftliche Belehrungen finden. An letzteren habe ich es nicht fehlen lassen, in Rücksichtnahme auf solche Leser, die auf der Schulbank nicht sonderlich viel Naturwissenschaft zu kosten bekommen haben. Dem gleichen Zweck der Belehrung dient auch die eingangs gegebene Geschichte der mikroskopischen Forschung.

Das Kapitel über die biologische Betriebskontrolle ist seiner Wichtigkeit entsprechend mit besonderer Ausführlichkeit durchgearbeitet.

Über Hefereinzucht habe ich vorwiegend solche Mitteilungen gemacht, die anderweitig nicht oder nur kurz zur Sprache gekommen sind.

Die Besprechung der Infektionsmöglichkeiten im Betriebe wird manchem willkommen sein und ihm den Weg zu mancherlei Verbesserungen in seinem Betriebe weisen.

In den Kapiteln Schimmelpilz-, Hefen- und Bakterienkunde habe ich manche Erfahrungen, die ich während meiner langjährigen Thätigkeit als Leiter der Abteilung für Reinkultur an dem Institut für Gärungsgewerbe in Berlin gesammelt habe, zum erstenmal niedergelegt. Man wird hier eine strenge, systematische Einteilung, wie sie die Botanik verlangt, vermissen; es war mir aber mehr darum zu thun, die Organismen nach der Bedeutung, die sie für die Praxis haben, beziehungsweise nach der Art der Beteiligung an dem Gärprozefs zu gruppieren.

Als besonders wichtig erschien mir für die Herausgabe des Buches eine reiche Mitgift von Abbildungen. Ich habe aber davon Abstand genommen, dasselbe mit Zeichnungen anzufüllen, die in andern Büchern bis zur Übersättigung immer wiederkehren.

Für die Überlassung einer gröfseren Anzahl Clichés, die sich auf Laboratoriumsgegenstände beziehen, nehme ich an dieser Stelle Veranlassung, der Firma Altmann-Berlin, Luisenstrafse, meinen besten Dank auszusprechen.

Wie ich im Laboratorium beim mikroskopischen Unterricht besonderen Wert auf die Anwendung der Kultur im hängenden Tropfen lege, da hier am besten die Entwicklung der Organismen schrittweise verfolgt werden kann, so habe ich auch die meisten Abbildungen solchen Tröpfchenkulturen entnommen. Dadurch, dafs ich fast durchweg

ein und dieselbe Vergrößerung gewählt habe, nämlich 600fach linear, ist für den Vergleich der einzelnen Organismen eine bessere Handhabe geboten.

Bei der übergroßen Zahl von Hefen, Schimmelpilzen und Bakterien, die sich in der Berliner Reinkulturensammlung im Laufe der Jahre zusammengefunden haben, war es mir unmöglich, jeden einzelnen Organismus eingehend zu beschreiben und mit botanischem Namen zu belegen. Ich habe vorläufig statt dessen die Nummer in der Sammlung als Bezeichnung beibehalten.

Die Lichtdrucktafeln mit den Riesenkolonien von den verschiedensten Hefen werden nicht allein für den Praktiker Interesse haben — liefern sie doch einen schlagenden Beweis für die Existenz verschiedener Arten —, auch dem Fachgelehrten werden sie für Vergleichszwecke willkommen sein. Er wird in der Lage sein, statt eine lange Beschreibung von dem Aussehen der Riesenkolonien zu geben, einfach auf den einen oder anderen Typus der Kolonienbildung hinweisen zu können. Bei der Auswahl der Bilder zu den Tafeln habe ich nicht möglichst verschiedene Arten, sondern möglichst verschiedene Typen des Wachstums herangezogen.

Durch die mikrophotographischen Bilder sollte gezeigt werden, daß bei Anwendung bestimmter Kulturmethoden der Unterschied zwischen Kulturhefen und wilden Hefen sehr leicht erkennbar wird. —

Zum Schluß möchte ich noch der Hoffnung Ausdruck geben, daß dieses Buch, zu dessen Abfassung ich von mehreren Seiten, insbesondere von Herrn Prof. Dr. Delbrück, sowie von vielen meiner Schüler aufgefordert worden bin, seinen Zweck erfüllen möge: Das ist, der allgemeinen Einführung des Mikroskops in die Praxis des Gärungsgewerbes die Wege bahnen zu helfen.

Dem Herrn Verleger Dr. Parey fühle ich mich für die gediegene Ausstattung des Buches zu besonderem Dank verpflichtet.

Berlin, im März 1895.

Vorwort zur zweiten Auflage.

Die Thatsache, daß nach einem 2½jährigen Zeitraum die erste Auflage des vorliegenden Buches völlig vergriffen war, ist wohl als ein Beweis dafür anzusehen, daß ich im großen und ganzen eine zweckmäßige Darstellung der in Betracht kommenden Methoden und Verhältnisse gegeben habe. Für die vorliegende Auflage sind mancherlei Er-

weiterungen des Textes und der Abbildungen notwendig gewesen. Das Kapitel über tierische Schädlinge ist z. B. ganz neu, ebenso das über die Erkennung der Gerste-Varietäten. Die bewährten Untersuchungsmethoden sind aufs eingehendste beschrieben worden, damit nötigenfalls auch der Praktiker davon Gebrauch machen kann. Wenn Prior nur dem akademisch Gebildeten die Fähigkeit zugesteht, mit dem Mikroskop umzugehen, so unterschätzt er die Intelligenz sehr vieler Praktiker und stellt den biologischen Untersuchungsmethoden, nach denen er bisher gearbeitet hat, nicht das beste Zeugnis aus.

Die praktisch so überaus wichtige Frage nach den Infektionsquellen im Betriebe habe ich nach dem heutigen Stand unserer Kentnisse und gestützt auf viele eigene Erfahrungen möglichst erschöpfend behandelt. Dafs ich auch die sonstigen, gerade in den letzten Jahren so reichlich dargebotenen Forschungsergebnisse thunlichst berücksichtigt habe, versteht sich von selbst; insbesondere habe ich jedoch Gelegenheit genommen, die genialen Methoden Beijerincks zur Kenntnis des Lesers zu bringen.

Dem Herrn Verleger Dr. Parey danke ich für die Bereitwilligkeit, dafs das Buch mit einer stattlichen Anzahl neuer Bilder und Tafeln ausgestattet werden konnte.

Berlin, im März 1898.

Vorwort zur dritten Auflage.

Die bedeutende Erweiterung, welche der biologische Teil in der vorliegenden Auflage erfahren hat, wird von vielen willkommen geheifsen werden. Mir selbst war sie in Hinsicht auf den Unterricht ein dringendes Bedürfnis. Ich bin aber soviel wie möglich bei den sehr schwierig zu bearbeitenden Kapiteln der schulmeisterlichen Schreibweise, wie man sie in Lehrbüchern so oft findet und die einem sofort alle Lust zum Lesen benimmt — ich erinnere an die schreckliche Art, wie die Gerste hinsichtlich ihres Baues zumeist erläutert wird, oder wie das Zustandekommen des mikroskopischen Bildes erklärt wird —, soviel wie möglich aus dem Wege gegangen, weil ich weifs, dafs der Praktiker — und für solche ist ja das Buch in erster Linie geschrieben — für solche Lektüre nicht zu haben ist.

Ich hoffe, dafs die Lust, mit der ich gerade an die Bearbeitung dieser Themata gegangen bin, sich auch auf den Leser übertragen wird, der hier Belehrung sucht.

Im übrigen dürfte auch die reichliche Zugabe von Abbildungen — im ganzen 229 gegen 156 in der vorigen Auflage — den Beweis liefern, dafs tüchtig gearbeitet worden ist.

Die mikroskopische Betriebskontrolle so einfach wie möglich zu gestalten, ist meiner Meinung nach die höchste Aufgabe, die ein Gärungsphysiologe, der für die Praxis Nutzen stiften will, sich stellen kann. Wir graben uns dadurch nicht selbst unser Grab, indem wir dem Praktiker lehren, wie er selbst seinen Betrieb kontrollieren kann, im Gegenteil, wir schaffen dadurch nur eine Gelegenheit mehr, dafs er mit uns in einen Austausch der Erfahrungen tritt.

Eine einfache Methodik erleichtert aber auch das Studium der kleinsten lebenden Naturgebilde überhaupt. Ich verweise hierbei auf die Bilder der Tafeln I und II, welche mit Hilfe der Tröpfchen- und Adhäsionskultur gewonnen sind und zum Teil von Präparaten meiner Schüler stammen. Sie lassen erkennen, wie sich die Entwicklung der Zellengruppen in ihrem natürlichen oder künstlichen Nährboden ungefähr abgespielt hat.

Auf diesen beiden Methoden habe ich seit einigen Jahren fast den ganzen mikroskopischen Unterricht an der Berliner Brauerschule und im Reinzuchtlaboratorium aufgebaut, und ich möchte nur wünschen, dafs auch auf unseren höheren Schulen und Hochschulen recht ausgiebiger Gebrauch davon gemacht würde.

Darüber dürfen wir nicht im Zweifel sein, der Weg zu einer gediegenen Naturerkenntnis — zu der es uns mit innerster Gewalt drängt — geht über die mikroskopische Betrachtung des Mikrokosmos.

Das mögen sich auch unsere Unterrichtsorgane bei Zeiten klar machen, denn das Bedürfnis darnach ist ein allgemeines, wie ich jahraus, jahrein von Hunderten von Praktikern zu hören bekomme, die gern etwas mehr Naturlehre — mit besonderem Bezug auf die technisch wichtigeren Lebewesen — gegen andere Unterrichtsgegenstände ausgetauscht haben möchten.

Zum Schlufs möchte ich Herrn Arthur Georgi, dem nunmehrigen Inhaber der Pareyschen Verlagsbuchhandlung, meinen Dank aussprechen für das bewiesene Entgegenkommen betreffs Ausstattung der vorliegenden Auflage.

Berlin, im Juli 1901.

Paul Lindner.

Inhalt.

Seite

Einleitung.

§ 1. Licht und Leben . . . . . 1—7
§ 2. Vom Auge und vom Sehen . . . . . 8—14
§ 3. Zur Geschichte des Mikroskopes und der mikroskopischen Forschung . . . . . 14—25

Mikroskopische Übungen.

§ 4. Das Mikroskop und seine Handhabung . . . . . 26—38
Das Anfertigen und Einstellen eines Präparates 29
§ 5. Mikroskopische Beobachtung eines wachsenden Krystalls . . 38—39
§ 6. Wachstum sogenannter „künstlicher Zellen“ . . . . . 39—40
§ 7. Quellungserscheinungen bei Stärkekörnern. Jodstärke . . . 40—41
§ 8. Verschiedene Stärkesorten. Malzstärke . . . . . 42—44
§ 9. Pflanzenleben im Wassertropfen . . . . . 44—57
§ 10. Tierische Bewohner des Wassertropfens . . . . . 57—77
Das Essigälchen, Anguillula aceti. (Müll.) 73
§ 11. Blatt- und Schildläuse . . . . . 77—81
§ 12. Milben . . . . . 81—86
§ 13. Fliegen . . . . . 86—90
§ 14. Die Fauna unserer Gersten- und Malzböden. . . . . 90—99
§ 15. Von der Gerstenpflanze. . . . . 99—109
§ 16. Erkennung verschiedener Gersten-Varietäten . . . . . 109—114
§ 17. Einiges über die Enzyme in der Gerste . . . . . 114—121
Der Wysmannsche Versuch 116
Der Beijerincksche Nachweis der Glukase 117
Nachweis von einer vorübergehenden Dextrinbildung bei der Einwirkung der Glukase auf lösliche oder gekochte Stärke 119
Vorkommen der Glukase. 120
Das Verhalten der Enzyme bei der Keimung 120
§ 18. Von der Kartoffel . . . . . 121—125
§ 19. Einiges über den Hopfen 125

Arbeiten im Laboratorium.

§ 20. Die Ausstattung eines Betriebslaboratoriums für mikroskopisch-biologische Untersuchungen . . . . . 126—140
Einrichtung eines botanischen Laboratoriums 136
Ausrüstung für besondere Zwecke 137
Gebrauchsanweisung für den Hefezählapparat 137
§ 21. Herstellung und Aufbewahrung der Nährsubstrate . . . . . 140—143

*

Seite

Kulturversuche und Untersuchungsmethoden.

§ 22. Die Vegetation eines Pferdeapfels . . . . . 144—146
§ 23. Beobachtungen bei Gerstenkeimversuchen . . . . . 146—148
§ 24. Die Reinkultur der Schimmelpilze. Die Tröpfchenkultur . . 148—151
Die Entwicklung einer Pilzspore 149
Das Verhalten der Pilzsporen bei Luftabschluſs. Das Vaseline-inschluſspräparat 150
§ 25. Die Reinkultur der Hefen . . . . . 151—156
Die Plattenkultur nach Koch und einige Abänderungen. . 152
Die Gelatinemethode nach Hansen 154
Die Verdünnungsmethode nach Hansen 155
Die Tropfenkultur 155
§ 26. Vermehrung der Reinhefe in Massenkulturen. Hefereinzucht-apparate . . . . . 157—170
Gebrauchsanweisung für den kleinen Reinzuchtapparat (System Lindner) 159
Der Kühle-Hansensche Reinzucht-Apparat 165
Der Pest-Lindnersche Reinzucht-Apparat 167
§ 27. Die genauere Charakterisierung eines in Reinkultur erhaltenen Schimmelpilzes . . . . . 170—172
§ 28. Die genauere Charakterisierung einer in Reinkultur erhaltenen Hefenart . . . . . 172—188
Gestaltung und Vermehrungsweise, Impfstrich-, Impfstich-kulturen, Kultur auf dünner Gelatineschicht, Flächen-kulturen, Gelatineverflüssigung, Anlage von Riesenkolonien, Prüfung der Hefen auf Sporenbildung, Hautbildung.
§ 29. Gärversuche . . . . . 188—197
Einleitende Bemerkungen über die Zuckergruppe 188
Das Verhalten der Hefe gegenüber verschiedenen Zucker-arten 190
Gärversuche im hohlen Objektträger nach Lindner 191
§ 30. Hefenenzyme . . . . . 198—201
Nachweis der Spaltung von Polysacchariden 200
§ 31. Gärversuche in Bierwürze . . . . . 202—216
Bestimmung der Endvergärung nach Delbrück und Irmisch 202
Gärversuche bei gewöhnlicher Temperatur 206
Erläuterungen zu den Tabellen I und II am Schluſs des Buches 209
Äuſsere Gärungserscheinungen 210
§ 32. Die Ernährungsbedingungen der Hefen . . . . . 216—225
Auxanographische Methode (nach Beijerinck) 217
Bestimmung der Gär- und Triebkraft der Hefe 220
§ 33. Die genauere Charakteristik einer in Reinkultur erhaltenen Bakterie . . . . . 225—227

Biologische Betriebskontrolle.

§ 34. Untersuchung der Luft auf ihren Keimgehalt . . . . . 227—231
§ 35. Untersuchung einer Betriebswürze auf ihren Keimgehalt . . 231—237
Untersuchung des Bieres auf Keimgehalt, Wasserunter-suchungen.

Seite

§ 36. Speciellere Aufgaben bei der Luftanalyse . . . . . 237—243
Prüfung von Luftfiltern 240
Einige Beispiele aus der Praxis 242
§ 37. Die trübenden, nicht organisierten Bestandteile der Würzen und Biere . . . . . 243—247
Kontrolle der Reinzuchtapparate 247
Probeentnahme, Mikroskopisches Bild der entnommenen Proben, Die bei der Tröpfchenkultur erhaltenen Bilder, Sporenuntersuchung.
Untersuchung von Bier aus dem Gärbottich oder Lagerfafs 255
Untersuchung der gewöhnlichen Anstellhefe 263

Infektionsquellen im Betriebe . . . . . 266—281

Schimmelpilzkunde . . . . . 282—324
Oidium lactis 284
Oidium lupuli 286
Oidium pullulans 286
Sachsia suaveolens 288
Dematium pullulans 289
Monilia candida 293
Monilia variabilis 294
Sarcinomyces crustaceus 300
Sarcinomyces albus 301
Fusisporium moschatum, Fusarium hordei 302
Septosporium (Alternaria) bifurcum 308
Epicoccum purpurascens 309
Hormodendron (Penicillium) cladosporioïdes 310
Gruppe der Pinselschimmel (Penicillium-Arten) 311
Penicillium glaucum 311
Schokoladenfarbener Schimmelpilz 315
Aspergillus-Arten (Kolbenschimmel) 315
Mucor-Arten (Köpfchenschimmel) 319
Mucor stolonifer 319
Amylomyces-Arten 322

Hefenkunde . . . . . 324—409
Zellformen 325
Vermehrung durch Sprossung und Spaltung 326
Übersicht über die Sporenformen und die Art ihrer Keimung . . . 328
Zellkern 330
Gerbsäurereaktion 334
Glykogen 334
Eiweifsreaktionen 336
Lebensdauer der Hefe 337
Zellhaut der Hefe 339
Den Hefeflocken beigemengte Substanzen 340
Die Kulturhefen . . . . . 342—363
Verhalten der Kulturhefen gegen Zuckerarten 344
Das Wachstum der Kulturhefen in Riesenkolonien 348
Untergärige Bierhefen 350

Seite

Die Hautbildung bei untergärigen Bierhefen 352
Wachstum der Zwergkolonien in dünner Würze-, bezw. Biergelatineschicht 354
Die obergärigen Brauereihefen 356
Die Hefen der Brennereien und Preßhefenfabriken 359
Die wilden Hefen . . . . . 363—407
Nachgärungshefen mit geringem Sauerstoffbedürfnis 369
Gruppe der Kahmhefen 374
Die Riesenkolonien der Kahmhefen 378
Sporenbildende Kahmhefen 380
Saccharomyces membranaefaciens, S. hyalosporus, S. farinosus, S. anomalus, S. anomalus var. belgicus, S. anomalus, S. acetaethylicus.
Gruppe der nicht Sporen bildenden Kahmhefen 385
Die Torula- oder Kugelhefen 387
Gruppe der roten Hefen 392
Saccharomyces Bailii, S. exiguus, S. apiculatus, S. cartilaginosus, S. fragilis, S. Hansenii, S. acidi lactici, S. minor, S. Marxianus, S. Zopfii, S. Ilicis, Aquifolii, S. Ludwigii, S. Cornesii.
Die Gruppe der Spalthefen 400
Schizosaccharomyces Pombe, asporus, mellacei, octosporus.
Einiges über die Vegetation der Weingärung . . . . . 407—409

Die Bakterien im Gärungsgewerbe 409–457
Die Bakterien der gehopften Würze 417
Termobacterium lutescens, fuscescens, album, iridescens, erythrinum.
Die Bakterien der Getreidemaischen und ungehopften Würzen . . . 421
Bacillus subtilis, Granulobacter.
Milchsäurebakterien 425
Bacillus Delbrücki, Saccharobacillus Pastorianus, Bacillus pastor. var. berolinensis, Bacillus Lindneri, Bacterium lactis acidi, Pediococcus acidi lactis.
Die Sarcinaorganismen 429
Essigsäurebakterien 448
Die stäbchenförmigen Bakterien der schleimigen Biere 455
Nachtrag. Das Nathansche Gärverfahren . . . . . 458—460
Namen- und Sachregister . . . . . 461—468

Einleitung.

§ 1. Licht und Leben.

„Es werde Licht!“ Erst nachdem dies Machtwort gesprochen, läfst die mosaische Schöpfungsgeschichte Land und Meer sich sondern und Gras und Kraut aus der Erde hervorsprieſsen. Ohne Licht kommt kein Ergrünen der Gefilde, keine Neubildung von Nährstoffen für Pflanze und Tier zu stande. Was Wunder, wenn so viele Völker wegen der schöpferischen Kraft der Sonnenstrahlen die Sonne als Gottheit verehrten!

Auf die Erde hat aber nicht sogleich heller Sonnenschein niedergeschienen.

Die Meeresfluten besafsen noch beträchtliche Wärmemengen; die Dunstschicht und die Wolkenmassen lieſsen vorerst nur eine Dämmerung aufkommen. Später erst wurde zeitweise eine rötliche Scheibe am Himmel sichtbar.

Die roten Lichtstrahlen haben von allen Lichtsorten der Sonne, die uns der Regenbogen verrät, die durchdringendste Kraft. Und gerade sie genügen schon, um die wichtigsten Lebenskräfte in der Pflanze zu wecken; sie gerade sind von der Pflanze am meisten begehrt.

Aus diesem Grunde gönnen wir unseren Blumen gern das Morgenrot und die Morgensonne mit ihrer Fülle roter Strahlen, aus diesem Grunde fühlen sich so viele Pflanzen auch im hohen Norden noch ganz heimisch, wo die am Horizont wandernde Sonne unablässig während eines halben Jahres ihren Purpur ausstrahlt.

Indem die grüne Pflanze nun das rote Licht verschluckt, macht sie sich die in seinen Schwingungen liegende Kraft zu eigen. Die kleinen Stärkekörnchen, die sich im belichteten Blatt bilden, sind die Accumulatoren, in denen diese Kraft gewöhnlich aufgespeichert wird. Ob aus dieser Stärke Zucker entsteht oder Fett oder Cellulose oder Holzsubstanz, aus jedem dieser Umwandlungsprodukte können wir die Sonnenkraft wieder gewinnen, sei es in Form von Licht oder Wärme.

Wenn die Dampfmaschine nachläfst in ihrer Leistung, dann wird unter dem Kessel wieder neue Kohle aufgeschüttet, und bei dem Aufglühen derselben werden jene Kräfte wieder frei, welche die Pflanze der Steinkohlenperiode mühsam im Laufe von Monaten und Jahren der Sonne abgerungen hatte.

Wenn wir mit unseren Muskeln ähnlich wie die Dampfmaschine mechanische Arbeit leisten, so stammt auch hier die Kraft aus den Nahrungsmitteln, die in letzter Linie schliefslich durch die Sonne geschaffen wurden.

Wenn wir grüne Blätter sammeln und in Spiritus tauchen, so bekommen wir eine smaragdgrüne Lösung, die kein rotes Licht durchläfst; wohl aber erscheint eine blutrote Färbung auf der belichteten Seite. Also das Blattgrün oder das Chlorophyll, wie wir es auch nennen, ist die bedeutsame Substanz, welche für die Pflanze die Sonnenkraft auffängt.

Nun verstehen wir auch, weshalb jeder junge Keim, welcher aus dem Boden hervorlugt, sich so schnell wie möglich grün färbt, weshalb alle Pflanzen, wie verschieden sie auch später in ihrer Blütenpracht sein mögen, doch gerade die grüne Farbe zuerst nicht missen wollen.

Das Grün des Frühlings hat den Vortritt; die anderen Farben, mit denen die Flora sich schmückt, kommen erst später zur Entfaltung, wenn das Heer der Bienen, Hummeln, Schmetterlinge und anderer Honigliebhaber unter den Insekten mobil geworden ist.

Nur in den Seen und Teichen bleibt es grün: die untergetaucht lebenden Algen brauchen jene Geschöpfe nicht und haben daher keine Veranlassung, besondere Lockfarben anzunehmen.

Aber nicht nur auf dem Lande und in dessen verhältnismäfsig seichten Gewässern offenbart sich die schöpferische Thätigkeit des Lichtes; auch draufsen im Weltmeer giebt es ungezählte Pflanzenkeime, die es begierig aufsaugen. Allerdings sind diese im Gegensatz zu den oft riesengrofsen Landpflanzen fast nur von mikroskopischer Kleinheit. Aus der Menge der jährlichen Fischernten hat man berechnet, dafs z. B. die Ostsee ebensoviel Pflanzensubstanz erzeugt, als wie ein gutes Weideland von gleicher Fläche zu liefern vermag.

Wenn auch die Pflanzensubstanz verhältnismäfsig dünn gesäet ist im Meer, so darf doch nicht aufser acht gelassen werden, dafs bis fast 200 m tief die Lichtstrahlen in dasselbe eindringen. Die photographische Platte hat uns diese Thatsache, die ein lebender Mensch[1]) nimmermehr in dieser Tiefe hätte ermitteln können, mit Leichtigkeit feststellen lassen.

---

[1]) Ein Mensch kann in einer Tiefe von 60 m nur ganz kurze Zeit ohne Schaden durch den gewaltigen Druck von sechs Atmosphären verweilen.

Dafs die Meerespflanzen besondere Einrichtungen aufweisen, mittelst deren sie sich schwebend erhalten können, versteht sich von selbst.

Aus verschlucktem Licht allein entsteht aber noch kein Zucker, keine Stärke, auch wenn noch so viel Blattgrün zugegen. Es mufs also noch ein andrer Faktor bei der Bildung dieser Stoffe eine Rolle spielen. Die Kohlensäure in der Luft und im Wasser ist dieser Faktor. Bei dem chemischen Vorgang der Verarbeitung der Kohlensäure wird Sauerstoff freigemacht, jener Stoff, der für unsere Atmung unumgänglich notwendig ist.

Wo der grünen Pflanze das Licht fehlt, wie in der Nacht, da erzeugt sie nicht nur nicht Sauerstoff, sondern verbraucht den vorhandenen zur eignen Atmung. Daher ist die Waldluft nachts nichts weniger als erfrischend; sie ist zu reich an Kohlensäure, ähnlich wie ein Gärkeller; sie wird erst eine Labung für unsere Lungen, wenn die Morgensonne lange genug gewirkt hat. Je weniger Kohlensäure zur Verfügung steht, desto weniger vermag die Pflanze am Tage zu schaffen; je reichlicher ihr davon geboten wird, desto üppiger gedeiht sie. In den dichtbevölkerten und spärlich gelüfteten, dunstgesättigten Wohnungen der armen Leute gedeihen die Zimmerpflanzen besser wie im grossen luftigen, aber zu trocknen Salon der reichen.

Wenn wir die ungeheuren Steinkohlenwälder in Betracht ziehen, die in der Erde begraben liegen, dann kommt uns wohl der Gedanke, dafs in jenen Zeiten üppigsten, ungestörten Gedeihens der Pflanzenwelt die Luft mehr Kohlensäure enthalten haben mag als unsere heutige Atmosphäre, und dafs jene Wälder mit dazu beigetragen haben, uns eine reinere Atmosphäre zu schaffen.

Verhältnismäfsig blattarme Pflanzen, wie die Schachtelhalme, konnten damals zu Riesen anwachsen, wohingegen unsere heutigen Schachtelhalme trotz wenig veränderten Baues nur noch Zwerge sind. Die Laubhölzer, welche erst lange nach der Steinkohlenzeit auftraten, weisen in ihrem Blattwerk eine immer gröfsere Oberflächenentwicklung auf, die sie befähigt, der dünner vertheilten Kohlensäure besser habhaft zu werden. Und was ist nach der Steinkohlenzeit noch an Kohlensäure weggenommen worden durch die zahllosen Generationen von Meeresthieren, welche die ausgeatmete Kohlensäure an Kalk gebunden in ihren Schalen oder Skelettteilen aufspeicherten! Die lange Kette der Kalkgebirge, die unseren Alpen im Süden und Norden vorgelagert ist, ferner die Höhenzüge des schweizerischen, schwäbischen und fränkischen Jura, die Kreide-Inseln der Ostsee, sie enthalten unermefsliche Mengen Kohlensäure gebunden.

Die Pflanzen sind gewissermafsen kaltblütige Geschöpfe; sie arbeiten nur langsam, dafür aber auch den ganzen Tag; nachts ruhen sie aus. Da die Temperatur nachts stark zurückgeht, wird nur wenig von

den Ersparnissen des Tages veratmet. So kommt es, dafs das Kapital an Pflanzensubstanz von Tag zu Tag gröfser wird. Der Baum wächst immer höher empor, während bei den Tieren nach einem gewissen Zeitpunkt die Einnahmen und Ausgaben sich das Gleichgewicht halten und die Körpergröfse nicht mehr zunimmt.

Nicht alle Pflanzen bedürfen des Lichts. Unsere Hefen in der Würze oder in der Maische, die Schimmelpilze auf dem Malz und an den Kellerwandungen, die Bakterien im Bier oder Wein oder in der Essigstube, die pathogenen Mikroben des Thierkörpers, sie gedeihen auch im Dunkeln, ja hier sogar besser wie im hellen Sonnenschein, der sie bei längerer Einwirkung geradezu tötet.

Allen diesen Pflanzen fehlt das Chlorophyll und daher auch die Fähigkeit, die Kohlensäure zu assimilieren. Und doch zeichnen sie sich vor den anderen Pflanzen durch eine fast tierische Energie aus.

Woher nehmen sie die Kraft, in wenigen Stunden das zu zerstören, woran das grüne Blatt, sei es der Gersten- oder der Kartoffelpflanze, vielleicht den ganzen Sommer über gebaut hat?

Nun, aus den Stoffen selbst, die sie so energisch angreifen, aus dem Zucker, in den die Stärke des Gerstenkorns oder der Kartoffelknolle übergeführt worden ist. Indem sie diese Stoffe zu spalten verstehen, sprengen sie gleichsam die Fesseln, durch welche die Kraft der Sonnenstrahlen gefangen gehalten war, und machen sich einen Teil dieser freiwerdenden Kraft nutzbar.

Auch in den grünen Pflanzen giebt es grofse Gewebsgruppen, die kein Chlorophyll besitzen und deshalb sich nicht selbst ernähren können. Je weniger solche Kostgänger in der Pflanze vorhanden sind, um so mehr wird sie für uns die Bedeutung einer Nährpflanze gewinnen. Sehen wir uns doch unsere Getreidearten, die Haupternährer der Menschheit, einmal daraufhin genauer an.

Mit Ausnahme der Wurzel sind fast alle Teile der Pflanze während der Vegetationsperiode grün gefärbt, und da, wo die Lichtstrahlen nicht reichlich genug hingelangen können, wie in das Innere des Halmes, da ist überhaupt kein Gewebe vorhanden — der Halm ist hohl.

Nur zur Zeit der Reife bleichen die Halme und Blätter, wenn alle Ersparnise nach der Ähre hin transportiert werden. Da die Körner in der Sommerhitze stark austrocknen, wird ihre Atmung auf ein Minimum beschränkt, und so kommt es, dafs sie jahrelang ohne erheblichen Verlust aufbewahrt werden können. Gelangt aber reichlich Wasser in das Korn und an den Keimling, dann beginnt das Leben zu erwachen, der Keimling wächst und zehrt von der erhaltenen Mitgift, die in dem grofsen Speicherorgan, dem Mehlkörper, niedergelegt war. Ein Gerstenkorn, 10—15 Tage im Dunkeln keimend, verliert 30—40 % seines Gewichtes. Die Wurzeln und der Blattkeim sind aber inzwischen schon hervorgebrochen,

letzterer wächst dem Licht entgegen, seine gelblich-bleichen Gewebe füllen sich in kurzer Zeit mit frischem Grün. Auf den Malztennen läfst man nur in Ausnahmefällen das Getreide so lang auswachsen, dafs es ergrünen kann. Aber in unseren Keimapparaten, da erhalten wir sehr leicht einen grünen Wald von Blättern, wenn der Deckel abgenommen worden ist. Hat man ihn daraufgelassen, dann streben die bleichen Keimblätter der einzigen Öffnung im Deckel zu, und einige Tage später ragt ein dichtes, nach allen Seiten hin divergierendes Büschel sattgrün gefärbter Blattspitzen in die Luft empor.

Das Ergrünen vollzieht sich in verschiedenen Lichtsorten verschieden schnell. Gerstenkeimlinge, die unter eine gelbe Glasglocke gestellt

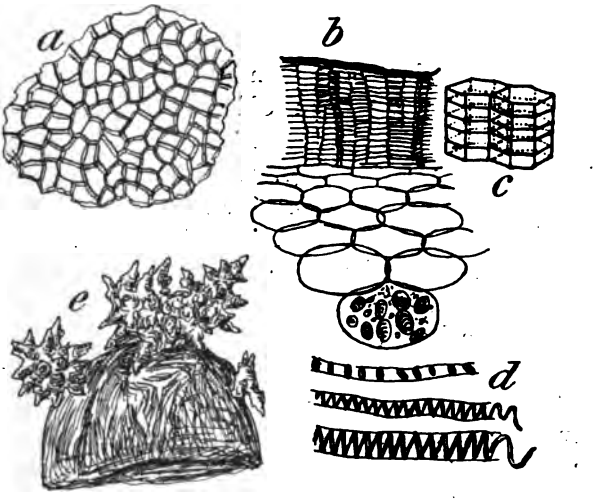


Abb. 1. Bilder von der Kartoffelknolle.

a Die Kartoffelschale mit ihren Korkzellen, von oben gesehen. b Querschnitt durch die Korkschicht (Schale) und das darunter liegende stärkeführende Gewebe. c Schematische Darstellung der Zellform in der Korkschicht. d Ring- und Spiralgefäfse aus dem Fleisch der Kartoffel. e Korallenartige Keimung von Kartoffeln im Licht.

werden, ergrünen schneller als unter einer blauen. In vielen Malztennen findet man die Fenster mit blauer Farbe angestrichen; hierdurch wird der Verfärbung des Blattkeims, auch wenn er noch unter der Spelze sitzt, etwas vorgebeugt. Wenn die Blattkeime unter der Spelze bereits hervorgekommen sind, wie bei dem Langmalz, dann wird sich der Unterschied zwischen blauem und hellem Licht noch deutlicher bemerkbar machen.

Bei Kartoffeln, die lange Zeit im Licht gelegen haben, läfst sich in den äufseren Schichten unterhalb der Schale ein schwaches Ergrünen feststellen. Die sonst farblosen Stärkebildner — Leukoplasten —, diejenigen plasmatischen Gebilde, welche das Kunststück fertig bringen, aus ge-

löstem Zucker ein festes Stärkekorn aufzubauen, findet man hierbei mit Chlorophyll schwach durchtränkt.

Solche im Lichte belassenen Kartoffeln keimen zwar aus, aber die Triebe bleiben kurz, gedrungen, korallenstockartig (Abb. 1 e) und färben sich bläulich-grün, wogegen die im dunklen Keller auskeimenden Triebe aufserordentlich lang werden und weifs oder gelblich bleiben.

Wenn man im Dunkeln gezogene Gerstenpflanzen betrachtet, so erscheinen die Keimblätter schwach gelblich gefärbt. Werden sie getrocknet und gepulvert und dann mit Schwefelkohlenstoff übergossen, so färbt sich dieser sogleich tief gelbrot. Läfst man eine Probe in einem Uhrgläschen verdunsten, dann bleibt ein Rückstand, welcher sich mit konzentrierter Schwefelsäure schön blau, mit Jodlösung grün färbt. Dieser vom Schwefelkohlenstoff gelöste Körper ist das Karotin, so benannt, weil er in der Mohrrübe Daucus carota besonders stark vorhanden ist. Dieser Körper findet sich auch in den grünen Pflanzen und läfst sich auch hier durch Schwefelkohlenstoff aus dem Chlorophyll herausziehen. In dem alkoholischen Auszug der grünen Blätter ist er auch vorhanden; denn fügt man zu demselben in einem Reagenzglas Äther und dann etwas Wasser, so treten zwei scharf getrennte Schichten auf, eine obere, blaugrüne und eine untere, gelbe. Die obere fluoresciert blutrot, der unteren fehlt diese Eigenschaft gänzlich. Der blaugrüne Bestandteil des Chlorophylls heifst Cyanophyll.

Die Trennung beider Farbstoffe kann man auch dadurch erreichen, dafs man in die Chlorophylllösung einen Streifen Fliefspapier hängt. Nach 2—3 Stunden kann man beobachten, dafs der gelbe Farbstoff kapillär höher hinaufgezogen wird als der grüne.

Allzu grelles Licht verzögert das Ergrünen der Pflanzen, weil mehr Chlorophyll dadurch zerstört als neu gebildet wird. Diffuses Tageslicht wirkt auf Chlorophyll am günstigsten ein.

Die Pflanze selbst hat die verschiedensten Vorkehrungen zu treffen gewufst, um die Chlorophyllkörperchen vor zu grellem Sonnenschein einigermafsen zu schützen; so geschieht dies durch glänzende, also lichtzurückstrahlende Blattoberflächen, Haardecken oder Wachsgebilde, Oberhautzellen mit gefärbtem Zellsaft u. dgl. m.; ferner hat sie dafür gesorgt, dafs die Chlorophyllkörperchen selbständig ihre Gestalt verändern können, oder dafs sie durch das Plasma an die Wand rücken können, dem Lichtstrahl so die geringste Oberfläche darbietend.

Die Sonne liefert uns aber nicht nur Licht, — sie ist auch eine Wärmequelle. Wie verhalten sich im Dunkeln ausgekeimte Gerstenpflänzchen, wenn sie Sonnenstrahlen ausgesetzt werden, die durch eine dunkle Lösung von Jod in Schwefelsäure gegangen sind? Diese Lösung verschluckt nämlich alles Licht und läfst nur Wärmestrahlen durch. Detmer macht hier folgende Angaben. Bis 6° findet nur ganz langsames

Ergrünen der ca. 2 cm grofsen Pflänzchen statt; bei 20 und 30° geht es geschwinder, bei 37° wieder langsamer, und bei 45° C. hört es überhaupt auf.

Grüne Pflanzen können also bei Gegenwart günstiger Nährstoffe auch im Dunkeln Chlorophyll bilden. So ist es Beijerinck gelungen, eine an Bretterzäunen häufige Alge, Protococcus vulgaris, jahrelang im Dunkeln auf Malzwürzegelatine zu züchten und dabei eine stets tiefdunkelgrüne Algenmasse zu erhalten.

Ans Licht gebracht vermochten diese Algen sich wieder anorganisch zu ernähren und Kohlensäure zu zerlegen.

Auch bei anderen Algen (Chlorella, Cystococcus und Stichococcus) ist es gelungen, sie bald als Saprophyten, bald als Autophyten (Selbsternährer) wachsen zu lassen. Jedoch zeigte sich hierbei stets ein Unterschied im Aussehen der Chromatophoren, indem diese bei dem passiven saprophytischen Leben immer stark gekörnt und oft undeutlich abgegrenzt in Bezug auf das Protoplasma, bei autophytischer Ernährung dagegen glänzend und durchsichtig und sehr scharf begrenzt waren.

Der Chlorophyllfarbstoff, an sich eisenfrei, ist doch bei seiner Bildung an die Gegenwart von Eisen gebunden. Keimpflanzen, in Nährlösungen ohne Eisen gewachsen, werden selbst im Licht nicht grün; erst Zugabe geringer Mengen einer Eisenchloridlösung bewirkt in kurzer Zeit das Ergrünen.

Zum Schluſs noch einige Worte über unsere heutigen Vorstellungen über das Licht.

Das Licht, das die Sonne ausstrahlt, schreitet mit einer Geschwindigkeit von 42000 Meilen (315000 km) in der Sekunde im Raum fort. Das rote Licht zieht Wellenkreise, die in Abständen von ungefähr je 0,00064 mm aufeinander folgen, während die violetten Lichtwellen eine Länge von ungefähr 0,00037 mm haben. Aus dem in der Sekunde zurückgelegten Weg und der Wellenlänge läſst sich die Anzahl der Schwingungen berechnen, die ein Ätherteilchen in der Sekunde ausführt; so erhält man für das rote Licht 485 und für das violette 831 Billionen (= 831000000000000) Schwingungen. Es sind dies Zahlen, die jeder Vorstellung spotten; ebenso können wir es kaum fassen, in welcher Weise unser Auge sich mit solchen Zahlen abfindet. Licht von höheren Schwingungszahlen, als das Rot und Violett aufweisen, giebt es wohl — die Photographie hat dies erwiesen —, aber für unser Empfinden ist es verloren, — kein Mikroskop, kein Fernrohr kann es uns auffinden lassen.

§ 2. Vom Auge und vom Sehen.

Den optischen Vorgang im Auge werden wir am besten begreifen, wenn wir dasselbe mit einem photographischen Apparat in Vergleich stellen.

Wenn der Photograph auf die matte Scheibe blickt, sieht er ein umgekehrtes Bild von den Gegenständen, die vor dem Apparat sich befinden. Scharf umgrenzt und klar zeichnen sich jedoch nur diejenigen ab, die eine ganz bestimmte Entfernung vom Objektiv haben. Will er entfernte oder nähere Gegenstände scharf sehen, so mufs er entweder den Apparat nach vorwärts oder rückwärts verschieben, oder er mufs die Entfernung der matten Scheibe vom Objektiv ändern, oder er mufs eine andre Linsenkombination vorn anschrauben.

Wie auf der matten Scheibe so malen sich auch auf dem lichtempfindlichen Hintergrund in unserem Auge die Gegenstände in umgekehrter Stellung. Verschaffen wir uns ein Pferde- oder Ochsenauge, so können wir uns davon leicht überzeugen; wir brauchen nur oben ein genügend grofses Guckloch auszuschneiden und durchzusehen.

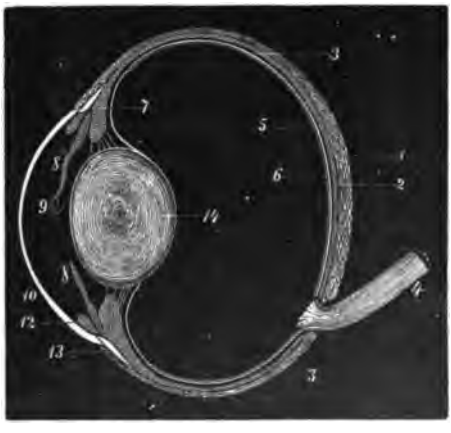


Abb. 2. Auge des Pferdes, von oben nach unten durchschnitten.

Ohne weiteres sichtbar wird das umgedrehte Bild, wenn wir das äufserlich gereinigte Auge eines weifsen (albinotischen) Kaninchens gegen das Fenster halten. Da das schwarze Pigment hier in der Netzhaut fehlt, schimmert das Bildchen hinten durch.

Ein Auge, das losgelöst vom lebenden oder toten Tier ist, zeichnet wie der photographische Apparat nur Gegenstände von ganz bestimmter Entfernung scharf. Das lebende Auge jedoch kann nach Belieben jedes vor ihm in weiterem Abstand als ca. 250 mm befindliche Bild scharf zeichnen, ohne dafs ein andrer Linsensatz vorn eingeschraubt wird, ohne dafs die lichtempfindliche Schicht, die Netzhaut oder Retina, in der die feinsten Endigungen des Sehnerven (Nervus opticus) liegen, nach vorn oder hinten verschoben zu werden, ohne dafs es den Gegenständen selbst mehr oder weniger genähert zu werden braucht. Der optisch wirksamste Teil unsres Auges ist die sogenannte Krystalllinse, ein aus völlig durchsichtigen Zellen zusammengesetzter, schalenförmig geschichteter Gewebe-

komplex, der in einer gleichfalls durchsichtigen, dünnen Kapsel befestigt ist. Auf diese Kapsel wirkt ein ringförmiges Muskelband derartig ein, dafs die Linse nach vorn gedrückt und dabei stark gewölbt werden kann. Die Beweglichkeit dieses Apparates bedingt das Sehen auf beliebige Entfernungen, die sogenannte Accommodationsfähigkeit unseres Auges.

Wenn der Photograph grell beleuchtete Gegenstände aufnehmen will, schiebt er zwischen den Linsensatz eine Blendscheibe mit möglichst enger Öffnung ein. Unser Auge hat ebenfalls eine solche Blendvorrichtung: die Regenbogenhaut oder Iris; nur ist dieser Apparat wesentlich kunstvoller gebaut. In ihrem Innern liegen zwei Schichten von glatten Muskeln; ringförmige zum Verkleinern und strahlenförmige zum Erweitern der Pupille. Bei starkem Lichtreiz verkürzen sich die ringförmigen Muskeln zu einem engeren Ring; beim Aufhören desselben nehmen sie wieder die frühere Länge an, und die strahlenförmigen Muskeln treten nunmehr in Funktion, die Pupille wird wieder grösser.

Ausser der Krystalllinse sind noch optisch wirksam die nach vorn gewölbte, durchsichtige Hornhaut mit der dahinter befindlichen wässrigen Flüssigkeit; hinter der Linse füllt der sogenannte Glaskörper, eine gallertartige, glashelle, durchsichtige Masse, den gröfsten Theil des Augapfels aus. Das Auge sieht nur dann scharf, wenn das Bild auf der Netzhaut scharf gezeichnet ist; das ist dann der Fall, wenn jedem Punkt des geschauten Gegenstandes nur ein Punkt des Bildes entspricht. Fällt bei einem zu kurzen oder bei einem zu langen Auge oder bei sonst normaler Länge des Augapfels bei zu schwach oder zu stark gewölbter Krystalllinse die Vereinigung des von einem Punkte ausgegangenen Strahlenbündels vor oder hinter die Netzhaut, dann erscheint der Punkt auf der Netzhaut nicht als Punkt, sondern als ein Kreis — Zerstreuungskreis — und infolgedessen wird das ganze Bild auf der Netzhaut verschwommen aussehen.

Die Vereinigung des von einem Punkt des geschauten Gegenstandes ausgehenden Strahlenbündels vor oder hinter der Netzhaut sucht man mit Hilfe von Konkav- resp. Konvexbrillen in die Netzhaut zu verlegen. Kurzsichtige tragen Konkavbrillen, Weitsichtige Konvexbrillen. Allzu kurzsichtige Personen lassen sich sogar die Krystalllinse aus dem Auge herausoperieren. Die Operation ist fast schmerzlos und fast ohne Gefahr; nur mufs die Krytalllinse wochenlang vorher erst durch einen Nadelstich zur Bildung des grauen Stars veranlafst worden sein, wodurch die Masse der Krystalllinse die für das Herausnehmen nöthige feste Konsistenz annimmt. Ob jemand kurzsichtig oder weitsichtig oder normalsichtig ist, — jeder Gegenstand in unmittelbarer Nähe oder in der Ferne bildet sich ziemlich scharf auf der Netzhaut ab, wenn nur ganz wenige Strahlen von jedem einzelnen Punkte desselben in das Auge gelangen. Man

nähere das Auge auf 2—3 cm dieser Schrift und man wird nichts lesen können, so verschwommen erscheinen die Buchstaben. Die Schrift erscheint aber sofort deutlich, wenn wir sie durch ein mit einer feinen Nadel gestochenes Loch eines Kartenblattes betrachten.

Sehr lehrreich ist der folgende, von Pater Schreiner 1652 zuerst beschriebene Versuch. Man steche zwei Löcher in ein Blatt, aber nur so weit voneinander entfernt, dafs die Pupille sie beide umschliefsen kann, und betrachte eine Stecknadel. Statt der einen Nadel sieht man zwei, solange sie nicht bis auf die Weite des deutlichen Sehens abgerückt ist. Erst in diesem Falle vereinigen sich die von der Stecknadel ausgehenden Strahlenbündel alle auf der Netzhaut. Ein Kurzsichtiger sieht die Nadel in geringerer Entfernung schärfer als ein Weitsichtiger. Als Norm für die Weite des deutlichen Sehens wird der Abstand von 25 cm angenommen.

Durch verstaubte und verschmutzte Gläser erhält man verschwommene Bilder. Auch im Auge würde, sofern nicht der Staub durch die Augenlider in kurzen Zeiträumen weggewischt würde, die Klarheit des Bildes bald beeinträchtigt werden.

Um die Reibung der inneren Fläche des Augenlides auf der die Hornhaut überziehenden zarten Bindehaut möglichst zu vermindern, wird von mehreren Gruppen lappiger Drüsen, die in der oberen Wand der Augenhöhle liegen und Thränendrüsen heifsen, fortgesetzt die aus Wasser und Salz bestehende sogenannte „Thränenflüssigkeit“ abgesondert, welche sich dann im innereren Augenwinkel sammelt und durch den feinen Thränenkanal in den Thränensack und von da in die Nase gelangt, was wir namentlich beim Weinen sehr bald merken.

Auch ca. 30 Talgdrüsen, die „Meibomschen Drüsen“ an dem innern Rand der beiden Augenlider, sorgen durch Absonderung der sogenannten Augenbutter für verminderte Reibung.

Beim Mikroskopieren machen sich diese Sekrete öfters störend durch ihre Schattenbilder bemerkbar. Die Erscheinung der sogenannten „tanzenden Mücken“, Mouches volantes, ist darauf zurückzuführen, dafs unmittelbar vor der Netzhaut in dem Glaskörper Veränderungen vor sich gehen und die dabei beteiligten Körperchen ihre Schatten auf die Netzhaut werfen. Unter Umständen nehmen wir sogar die in der Netzhaut selbst liegenden Blutgefäfse wahr: wenn wir in einem dunklen Zimmer seitlich des Auges eine brennende Kerze hin und her bewegen, erscheint die „Purkinjesche Aderfigur“.

Woher kommt die Umkehrung des Bildes im Auge? Der Soldat, der einmal stehend, das andere Mal liegend auf das Zentrum der Zielscheibe einen Schufs abgiebt, trifft mit der ersten Kugel den Kugelfang unten, mit der zweiten oben. So treffen die von dem oberen Teil eines Gegenstandes durch die Pupille hindurch ins Auge gesandten Licht-

strahlen die Netzhaut unten, die von unten gesandten oben. Hätte der Kugelfang fühlen können, so würde er bei der ersten Kugel einen Stofs von oben nach unten verspürt haben und auch die Kraftquelle nach oben verlegt haben. Ähnlich unsere Netzhaut: die vom Lichtstrahl getroffene Nervenendigung verspürt, aus welcher Richtung die Erschütterung gekommen ist, und in diese Richtung verlegt unsere Empfindung auch den leuchtenden Punkt.

Bezüglich der scheinbaren Gröfse eines Gegenstandes: Derselbe Gegenstand erscheint uns um so kleiner, je weiter er sich entfernt. Je weiter der Soldat sich von der Zielscheibe entfernt, um so mehr nähern sich die Punkte, wo jene zwei Kugeln im Kugelfang einschlagen; mit anderen Worten: der Winkel, welchen die beiden Geschofsbahnen vor und hinter dem Kreuzungspunkt (Centrum der Scheibe) bilden, wird immer spitzer. Vorausgesetzt wird hier, dafs die Geschofsbahnen gerade Linien darstellen, nicht krumme, wie in der Wirklichkeit. Beim Auge liegt der Kreuzungs- resp. „Knotenpunkt" der von den oberen und unteren Endpunkten eines Gegenstandes ausgehenden und durch die Pupille eingetretenen Lichtstrahlen im hinteren Teil der Krystalllinse, und der Winkel, welchen diese Strahlen bei ihrer Kreuzung bilden, heifst „Sehwinkel".

Bei zu kleinem Sehwinkel, etwa 1°, sind die Gegenstände nicht mehr erkennbar; dies tritt ein bei zu weiter Entfernung oder zu grofser Kleinheit. Im ersteren Falle bedienen wir uns eines Fernrohres, im letzteren eines Mikroskopes, um den Sehwinkel zu vergröfsern. Sollen zwei Lichteindrücke von unsrer Netzhaut noch als verschieden empfunden werden, so müssen die beiden Strahlen bei ihrem Eintritt in die Netzhaut mindestens 0,003 mm auseinanderliegen.

Mit bloſsem Auge kann man einen solchen geringen Abstand nicht mehr erkennen. Die mikroskopische Untersuchung eines Netzhautquerschnittes belehrt uns, dafs die letzten Nervenendigungen zapfen- oder stäbchenförmige Gebilde von 0,0025 mm sind. Zwei innerhalb eines solchen Stäbchens einfallende Lichtstrahlen würden zu einem einzigen Lichteindruck verarbeitet werden.

Wenn der Photograph sehr feine Einzelheiten auf die Platte bekommen will, darf er nur eine solche mit „feinem Korn" nehmen, wo also das Chlor- oder Bromsilber höchst fein in der Gelatine vertheilt ist. Zu grofse Körner würden mehrere Lichtstrahlen auf einmal verschlucken und daher auch nur grobe Bilder geben. Indem das Licht auf das Chlor- oder Bromsilberkörnchen fällt, wird diese chemische Verbindung gelockert, so dass bei der nachherigen Behandlung der Platte im Entwickler (Hydrochinon-, Glycin,- Pyrogallusentwickler u. s. w.) das Silber metallisch ausfällt und schwarze Töne giebt. Das Licht hat also hier eine chemische Veränderung des Silbersalzes bewirkt.

Auch im Auge bewirkt das Licht chemische Umsetzungen. Der

sogenannte Sehpurpur, welcher die Stäbchen in der Netzhaut umgiebt, wird durch das Licht zerstört, so zwar, dafs bei fester Stellung des Auges ein sogenanntes Optogramm entstehen würde, in welchem die helleren Stellen anzeigen würden, wo die Lichtstrahlen den Sehpurpur allmählich aufgezehrt haben. Angestrengtes Sehen oder Miskroskopieren nimmt uns mehr Sehpurpur weg, als neu gebildet werden kann, und längere Ruhepausen sind notwendig, um diesen Ersatz zu schaffen.

Die Stäbchen der Netzhaut sind jedenfalls nur auf drei Farben abgestimmt: Roth, Grün, Violett, welche als Grundfarben bezeichnet werden; bei ihrem Zusammenwirken empfindet sie das Auge als Weifs. Bei längerer Betrachtung z. B. eines roten Objektes ermüden allmählich die rot empfindenden Stäbchen; richten wir nun das Auge auf eine weifse oder schwarze Wand, dann erscheint uns ein grünlich-blaues Nachbild des roten Gegenstandes, weil der Erregungszustand der grün und blau empfindenden Stäbchen andauert und die roten Strahlen aus der weifsen Wand unwirksam bleiben.

Wenn der Photograph sich überzeugen will, ob die Einstellung genügend scharf ist, so pflegt er nötigenfalls eine Lupe zu Hilfe zu nehmen, um das Bild auf der matten Scheibe damit genauer su betrachten. Auch dann, wenn er die matte Scheibe mit einer völlig durchsichtigen vertauscht, bekommt er mit der Lupe das Bild zu sehen. In beiden Fällen erscheint dasselbe verkehrt und vergröfsert. Nach dieser letzten Auseinandersetzung werden wir auch das Zustandekommen des mikroskopischen Bildes leicht begreifen. Das Mikroskop ist eine Kamera, mit der aber nur sehr kleine und unmittelbar vor das Objektiv gebrachte Dinge abgebildet werden sollen. Statt des ausziehbaren Balges sind hier ausziehbare Metallröhren vorhanden, deren innere Wandungen ebenfalls geschwärzt sind. Eine matte Scheibe fehlt an der Stelle, wo das Bild durch die Vereinigung der Strahlenbündel zu stande kommt; dafür ist aber eine Lupe vorhanden, durch die wir das Bild anschauen. Diese Lupe heifst beim Mikroskop Okular. Das Bild erscheint wie auf der matten Fläche so auch im Okular verkehrt.

Beim Photographieren mikroskopischer Dinge, wie Hefengruppen, bringt man vor die Kamera ein Mikroskop; dessen Objektiv wirft bei genügender Annäherung an das Präparat ein Bild auf die am Ende der ausziehbaren Kamera befindliche matte Scheibe. Je weiter wir diese Scheibe entfernen, um so gröfser wird das Bild. Damit es aber nicht undeutlich, verschwommen wird, müssen wir das Objektiv wieder etwas mehr dem Objekt nähern.

Würden wir zwischen die Lichtquelle und das Objekt nacheinander verschiedene farbige Gläser einschalten, z. B. ein blaues oder ein gelbes, so würde die matte Scheibe nicht mehr das Bild in derselben Schärfe zeigen, wie vorher, da die blauen Lichtstrahlen sich schon etwas

vor der matten Scheibe, die gelben etwas hinter derselben vereinigen. Verschiedene Lichtsorten werden ungleich stark durch die Glaslinsen gebrochen. Eine Aufnahme bei einfarbigem (monochromatischem) Licht wird uns bei weitem schärfere, korrektere Bilder liefern wie eine Aufnahme mit dem weifsen Sonnenlicht. Das kommt daher, weil das letztere, ebenso wie das elektrische Bogenlicht oder das Glühlicht, gleichzeitig verschiedene Lichtsorten ausstrahlt, von denen eine jede in einem besonderen Punkt zur Vereinigung kommt. Der blaue Strahlenkegel hat seine Spitze vor der matten Scheibe, auf der das Bild mit weifsem Licht eingestellt war; der gelbe Strahlenkegel hat seine Spitze hinter derselben, er ist somit länger als der blaue und auch breiter; er würde, wenn der blaue gleichzeitig zugegen wäre, wie es bei der Beleuchtung mit weifsem Licht ja der Fall ist, mit seiner Randzone den letzteren umhüllen, oder mit andern Worten: wenn wir die matte Scheibe bis zur Spitze des blauen Kegels schieben, wird das Bild mit einem gelben Saum umgeben werden. — Würden wir die matte Scheibe bis zur Spitze des gelben Strahlenkegels hinrücken, dann würden wir umgekehrt einen blauen Rand um das Bild wahrnehmen, weil die Randstrahlen des blauen Kegels ja nach ihrer Kreuzung sogleich wieder divergieren, und zwar viel stärker als die unter einem spitzen Winkel zusammenlaufenden gelben Randstrahlen. Nach dem Gesagten wird uns auch das bei minderwertigen Mikroskopen häufige Auftreten starker farbiger Säume nicht mehr sonderlich auffallen.

Das den optischen Werkstätten in Bezug auf Mikroskope gesteckte Ziel ist, die Linsenkombination nach Form und chemischer Zusammensetzung so zu wählen, dafs ein von Farbensäumen freies Bild zu stande kommt oder, wie man sich ausdrückt, die „chromatische Abweichung" aufgehoben wird. Die achromatischen und apochromatischen Systeme sind das Resultat derartiger Bestrebungen gewesen. Ganz ist die sogenannte farbige Abweichung — chromatische Aberration — noch nicht beseitigt, jedoch ist sie auf ein Minimum reduziert. In den apochromatischen Systemen hat man je drei Farben in einem Punkte vereinigen können, während man bei den achromatischen Systemen nur zwei Farben an einem Punkte zusammenbringen konnte.

Es ist einleuchtend, dafs durch die ersteren eine erhebliche vermehrte Lichtkonzentration gegeben ist. Bei den Achromaten mufste darauf Rücksicht genommen werden, ob sie photographischen Zwecken dienen sollten oder zur Okularbeobachtung. Für letztere wurde ein möglichst scharfes Bild für die grün-gelben Strahlen — welche dem Auge am angenehmsten sind —, für erstere für die blau-violetten Strahlen, welche auf die photographische Platte am wirksamsten sind, angestrebt. Für alle anderen Farben geben die Achromaten mehr oder weniger verschwommene Bilder, welche teils als farbige Säume jenes schärfste Bild umgeben, teils als allgemeiner Nebel sich über die ganze Bildfläche verbreiten.

Nicht blofs auf die Objektive, auch auf die Okulare haben sich die Verbesserungen erstreckt. Ja, man hat z. B. bei den Kompensationsokularen der Firma Zeifs erreicht, dafs Fehler der Objektive in der Randzone des Sehfeldes durch sie wieder korrigiert werden. Wenn wir mikroskopische Bilder photographieren wollen, bedienen wir uns auch noch besonderer Okulare, der sog. Projektionsokulare, bei welchen die Vereinigung der optisch und chemisch wirksamen Strahlen an einem Punkt angestrebt ist, damit das, was das Auge auf der matten Scheibe deutlich sieht, auch von der photographischen Platte mit gleicher Schärfe wiedergegeben wird.

Eine andere Schwierigkeit für den Optiker bietet noch die „sphärische Aberration". Das auf der matten Scheibe erscheinende Bild erweist sich in der Mitte und nach dem Rande zu ungleich scharf. Beide gleichzeitig scharf einzustellen, ist ein Ding der Unmöglichkeit. Aber auch nach dieser Richtung hin hat man Fortschritte gemacht durch den Bau sogenannter aplanatischer Objektive. Die sphärische Abweichung liefse sich wohl auch vermeiden, wenn es technisch ebenso leicht wäre, elliptische Gläser so genau zu schleifen als halbkugelige Linsen.

§ 3. Zur Geschichte des Mikroskopes und der mikroskopischen Forschung.

Schon im alten Niniveh wurden geschliffene Linsen aus Bergkrystall gefertigt, wie neuere Ausgrabungen ergeben haben.

Im Jahre 400 v. Chr. spricht der griechische Komödiendichter Aristophanes in seinen „Wolken" von einer entzündenden Kugel, von einem Glase, durch welches man mit Hilfe der Sonnenstrahlen Papier in einiger Entfernung in Brand stecken könne. Seneca, der Lehrer des römischen Kaisers Nero, erwähnt, dafs Glaskugeln, die mit Wasser gefüllt sind, uns eine kleine und undeutliche Schrift gröfser und deutlicher erkennen lassen. Im Mittelalter sind Brenngläser schon vielfach im Gebrauch. In Freising wurden sie regelmäfsig am Charsamstag benutzt, um „das heilige Feuer am Licht der Sonne zu entzünden". Auch zu Heilzwecken dienten sie, so zum Brennen der Epileptischen.

Im 13. Jahrhundert kommen die Brillen auf. Der Zunft der Brillenschleifer gehören Johannes und Zacharias Jansen an, die in Middelburg in Holland um 1590, also ungefähr 100 Jahre nach der Entdeckung Amerikas, das erste zusammengesetzte Mikroskop fertigten.

1608 wird von Lippersheim das Fernrohr entdeckt.

Die ersten Mikroskope oder „Smikroskope" dienten zunächst mehr zur Belustigung der Gelehrten und der Laien als zu ernster Beschäftigung; sie führten gewöhnlich die Bezeichnung „Flohgläser", weil der lebende Floh das beliebteste Beobachtungstier war. Eine mehr wissenschaftliche

Bedeutung erhielten sie erst durch Anton Leeuwenhoek; er wurde der Kolumbus für jene unsichtbare Welt, die im Wassertropfen ihr Dasein fristet. Im September 1675 findet er in Regenwasser, das in einer ausgepichten Tonne einige Tage gestanden hatte, eine Menge kleiner lebender Geschöpfe. Regenwasser, das er auf zerstofsenen Pfeffer gofs, enthielt nach einigen Tagen massenhaft kleine Tierchen, bis 10000 in einem Tropfen, während frisches Regenwasser oder geschmolzener Schnee frei davon war.

1680 erkennt er die Hefe als aus runden und ovalen Körnchen bestehend, ebenso die Stärke- und Pollenkörner.

Leeuwenhoek stellte sich auch die Frage: Woher stammen die Geschöpfe, die sich im Wassertropfen nachweisen lassen? Er antwortet folgendermafsen: Sie sind nicht von selbst aus dem Wasser entstanden, sondern sie haben sich aus Keimen entwickelt, die in der Luft vorhanden waren. Wenn sie sich in dem Aufgufs von zerstofsenem Pfeffer oder anderen Pflanzenstoffen besonders zahlreich entwickeln, so kommt dies von der reichlichen Ernährung.

Leeuwenhoeks Entdeckungen wollte niemand Glauben schenken. Erst 1677 erhalten sie gewissermafsen die offizielle Bestätigung in einem feierlichen Protokoll der Royal Society in London, welches von den gröfsten Männern jener Zeit unterzeichnet ist. Robert Hooke, der Präsident dieser Gesellschaft, der wissenschaftlichen Centrale jener Zeit, in der alle bedeutenden Arbeiten zusammenströmten, hatte sich selbst von dem Vorhandensein jenes Mikrokosmus überzeugt. Hooke ist auch der Entdecker der pflanzlichen Zelle geworden; er fand, dafs im Kork sowie im Hollundermark Hohlräume vorkommen, die ähnlich den Zellen der Honigwabe angeordnet sind; auch im Holz und in der Rinde fand er solche Zellen. Nesselhaare, Schimmel und Moose werden ebenfalls von ihm untersucht. Das Verdienst jedoch, eine mehr systematische Erforschung des inneren Baues der Gewächse mit Hilfe des Vergröfserungsglases eingeleitet zu haben, gebührt einem italienischen Arzt und Anatom: Marcell Malpighi. Er hatte sich einst einen Splitter von Kastanienholz, den er sich in die Hand gejagt hatte, nach dem Herausziehen unter dem Mikroskop angesehen und ihn aus lauter Schläuchen bestehend gefunden. Diese zufällige Begebenheit bestimmte ihn zur konsequenten Anwendung des Mikroskops in seiner Wissenschaft. Er entdeckt neben den Bläschen und den fasrigen Bestandteilen der Pflanzen auch Bündel von Röhren, die Vasae oder Gefäfsbündel, Gefäfse. Er unterscheidet bei der Rinde die äufseren, abfallenden, toten Zellen von den inneren, lebenden; er stellt den senkrechten Verlauf der Holzfaser fest und den radialen Verlauf der Markstrahlen, sowie die Verbindung

der Gefäfse mit den Blättern. Gleichzeitig mit Malpighi und Hooke ist Grew zu nennen. Er vergleicht die Struktur des Holzes in dünnen Querschnitten mit einem Gewebe und spricht von Pflanzengeweben. Auch den Ausdruck „Parenchym" führt er ein, und zwar für die bläschenförmigen, dem Lungenparenchym ähnlich gebauten Gewebsmassen. Grew beschreibt die Gefäfse und auch die Struktur der Zellwandungen schon viel vollständiger als Malpighi.

Nun tritt eine längere Pause in der mikroskopischen Forschung ein. Man hatte den Fehler gemacht, alles bei zu starker Vergrösserung sehen zu wollen. Da die Glaslinsen aber noch zu wenig korrekt geschliffen wurden, da ferner noch nicht bekannt war, wie man die farbigen Ränder der Bilder vermeiden konnte, wurden letztere nie besonders deutlich. Hier half die Phantasie nach, und so entstanden die ungeheuerlichsten Schilderungen, die das Mikroskop bei den ernsteren Forschern bald in Verruf brachten. Noch durch einen anderen Umstand wurde die allgemeine Aufmerksamkeit von den mikroskopischen Studien abgelenkt. Linné hatte inzwischen für eine andere Disciplin in der Botanik, die Systematik, neue Bahnen eröffnet, und die Mehrzahl der Forscher lenkte in dasselbe Geleise ein. Linnés Leistungen lagen hauptsächlich in der Kunst der Beschreibung. Er verstand die einzelnen Organe der Pflanzen genau zu präcisieren, schuf klare, nicht mifszuverstehende Begriffe und fixierte dieselben durch passende, noch heute gebräuchliche Ausdrücke. Er stellte ein System der Pflanzen auf, für das er die Merkmale der Blüte in erster Linie zu Grunde legte; ferner schuf er eine besondere Nomenklatur.

Die im Gärungsgewebe gebräuchlichen Pflanzenarten erhielten in jener Zeit ihre definitiven botanischen Namen.

Für die Gerste wählte Linné die schon bei den Römern gebräuchliche Bezeichnung Hordeum (von horrēre, rauh-stachlig sein, wegen der rauhen Grannen). Er stellte sie in seine dritte Klasse Triandra, weil die Blüte drei männliche Organe (Staubfäden) aufweist. Auch Roggen, Secale cereale *L.*, und Weizen, Triticum, gehören hierher.

Den Hopfen nannte er Humulus Lupulus. Das Wort Humulus ist das latinisierte germanische Humel, Humela oder Humal (im Persischen Hamal), d. h. ein Gewächs, welches ohne Stütze auf der Erde hinkriecht. Einige leiten das Wort Hopfen, welches in „Wiedehopf" ein Seitenstück hat, von Haupt ab, andere von dem altdeutschen Hop, welches so viel wie Schopf bedeutet und auf die Form des Blütenstandes hinweist. Das Wort Humle kommt zuerst in der Sammlung von Hauskuren der heiligen Hildegardis vor, die 1180 als Äbtissin zu Bingen gestorben ist. Den Beinamen Lupulus, ein kleiner Wolf, führt der Hopfen, weil er andere Pflanzen umschlingt und ihnen schadet; bei Plinius ist die Pflanze schon als Weidenwolf, Lupus salictarius, bezeichnet. (Nach Leunis' Synopsis.) Linné stellte den Hopfen in seine 22. Klasse Dioecia (Zweihäusige). Die eine Pflanze hat nur männliche, die andre nur weibliche Blüten. Zwitterblüten kommen nicht vor.

Die Korkeiche, Quercus suber (suber = Kork) und die gewöhnliche Eiche, Quercus robur (robur = Stärke, Kraft), ebenso den Haselstrauch, Corylus avellana (Avella, eine Stadt in Italien), reiht Linné in seine 21. Klasse Monoecia (Einhäusige), weil auf derselben Pflanze weibliche Blüten und männliche, aber nicht Zwitterblüten vorkommen. Auch der Mais, Zea Mays *L.*, gehört in diese Klasse.

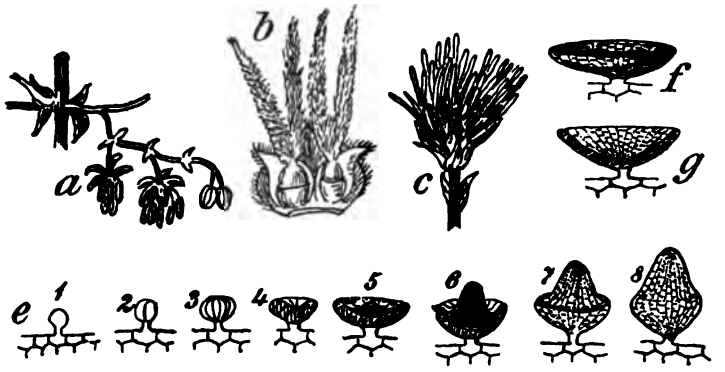


Abb. 3. Hopfen, Humulus Lupulus.

a Zweig eines männlichen Blütenstands. b Zwei weibliche Blüten mit Deckblatt. c Weiblicher Blütenzapfen. e Entwicklung der Drüsenhaare. f u. g Leergebliebene, becherförmige Drüsenhaare.

Der Reis, Oryza sativa *L.*, gehört in die Klasse Hexandria (6 Staubgefässe).

Die für das Brennereigewerbe so überaus wichtige Kartoffel, Solanum tuberosum, stellt Linné in die fünfte Klasse, Pentandria, wegen der 5 Staubgefäfse.

Die Hefe galt zu Linnés Zeit noch nicht als Pflanze; ihre botanische Benennung hat gemäfs der verschiedenen Anschauung über ihre Natur häufig gewechselt. Persoon nannte sie 1822 Mycoderma (Pilzhaut). Desmazières rechnete sie 1827 zu den Infusorientierchen. Schwann nannte sie Zuckerpilz und Meyen gab ihr 1837 die botanische Bezeichnung Saccharomyces cerevisiae. Kützing stellte sie als Cryptococcus (verborgener Kern) zu den Algen. Cagniard de Latour und Schwann beobachteten 1837 ihre Vermehrung durch Sprossung. Turpin nennt sie Torula (Wulst, Knoten), weil sie gleichsam in knotigen Fäden auswächst. Bail nannte sie Hormiscium (= Schnürchen). In dem Linnéschen System ist sie in die 24. Klasse, Cryptogamia, zu stellen, welche die verborgenblütigen oder blütenlosen Pflanzen, die weder Staubgefäfse noch Samenknospen besitzen, umfafst.

Während der Linnéschen Periode — Linné starb 1778 — war das Mikroskop, wie schon erwähnt, wenig zur Geltung gekommen.

Über ein Jahrhundert war verstrichen, als die Beobachtungen von Malpighi und Grew über den eigentümlichen Gefäfsbau der Gewächse durch eine im Jahre 1804 in Göttingen gestellte Preisaufgabe wieder zur allgemeinen Kenntnis und Anerkennung gelangten. An der Lösung hatten sich die bedeutendsten Botaniker jener Zeit beteiligt. 1807 wurde der Preis ausgeteilt. Gekrönt wurden die Arbeiten von Treviranus, Rudolphi und Link. Diese Männer, denen sich noch Meyen

und Mohl zugesellten, brachten innerhalb der nächsten Jahrzehnte die Forschungen über die innere Architektur der Gewächse bis zu einem gewissen Abschlufs.

Im Bau des Mikroskopes hatten inzwischen auch einzelne wichtige Verbesserungen stattgefunden. Man hatte an Stelle einer einzigen Glaslinse im Objektiv deren mehrere zusammengestellt; einmal dadurch und ferner durch die Anwendung verschiedener Glassorten mit verschieden starker Lichtbrechung erreichte man, dass die Lichtstrahlen sich immer dichter im Brennpunkt zusammenscharten und die farbigen Ränder, die bisher die mikroskopischen Bilder entstellt hatten, fast ganz verschwanden und dafür ein farbenreines Bild zum Vorschein kam. Auch bei den Okularen kombinierte man bald mehrere Glaslinsen.

Den ersten Anstofs zu diesen Verbesserungen hatte das Studium des menschlichen Auges gegeben, welches mit zwei ungleich brechenden Medien — Linse und Glaskörper — ausgestattet, farbenreine Bilder liefert. Der Engländer Hall war es, der 1733 die ersten „achromatischen" Linsen fertigte, und zwar aus Kronglas und bleihaltigem Flintglas. Für das Mikroskop wurden sie jedoch erst viel später — 1778 durch Nikolaus Fuss und 1811 durch Frauenhofer verwertet.

Anfang der 30er Jahre fertigten Amici und Plössl bereits Mikroskope mit 400facher Vergröfserung an. Von dieser Zeit ab gelangt die Pflanzenanatomie in stetiger Folge zu ihrer eigentlichen Blüte.

Die Erkenntnis von dem Aufbau der Pflanzengewebe aus einzelnen Zellen und von der Bedeutung der Zelle für das Leben der ganzen Pflanze ist mit der hauptsächlichste Gewinn der Forschungen jener Zeit.

Durch vergleichende Betrachtung von Längs- und Querschnitten hatte man schon früher klarere Vorstellungen über die Organisation des Pflanzenkörpers angestrebt. So redet Malpighi schon von Schläuchen, die reihenweise angeordnet seien, Grew vergleicht die Organisation der Pflanze mit dem Bierschaum oder dem Schaum geschlagener Eier. In einer Grundsubstanz finden sich Löcher, Poren, wie in einem Schwamme. Dieselbe Anschauung hatte auch noch Caspar Friedrich Wolff, der zur Zeit Friedrichs des Grofsen lebende Arzt und Philosoph und Begründer der als Entwicklungsgeschichte bezeichneten Disciplin. Er nahm an, dafs die erste Anlage eines Organes eine sulzige Masse bilde, in welcher erst später Poren entstehen, welche den zelligen Charakter der Gewebe bedingen. Ein anderer Forscher, Mirbel, vergleicht den Bau der Pflanze mit dem einer Brotkrume oder des Schweizerkäses.

Link zeigte dann, dass sich diese Poren und Löcher aber isolieren lassen, wenn man die Pflanzengewebe koche (z. B. die Kartoffel). Die Bläschen würden dann isoliert. Auch dann, wenn man Pflanzen faulen liefs, z. B. die Blumen in einem Wasserglase, beobachtete man eine

Trennung der zahlreichen Bläschen. Ähnliches fand man bei Untersuchung der Exkremente von Pflanzenfressern, z. B. der Seidenraupen, die von Maulbeerblättern leben. Dutrochet zeigte, dafs gewisse Pflanzengewebe, wenn sie mit Salpetersäure gekocht werden, ihre Zellen freigeben, als wäre das Gewebe ein Sack mit Erbsen, die herausfallen, sobald der Sack zerrissen wird. Auch auf dem Wege der Entwicklung treten solche Zellisolierungen auf, beim Reifen der Beeren (Schneebeere), beim Teigigwerden der Birnen u. s. w. Im Schwammparenchym der Blätter sieht man ebenfalls mehr oder weniger voneinander losgelöste Zellen; auch in den schlüpfrig gewordenen Wurzelhauben der Grünmalzkeime und in dem mürbe gewordenen Mehlkörper des Malzkornes. Beim Maischprozess werden ebenfalls sehr viele Zellen freigelegt und isoliert, und findet man sie später massenhaft in dem Treberschlamm.

Die Betrachtung der einzelnen Zelle führte auch zu mancherlei neuen Anschauungen und Entdeckungen.

Der Zoologe Karl Ernst von Baer ist es, welcher der Evolutions- oder Einschachtelungstheorie den Laufpafs giebt 1828 bez. 1832. Er lehrt, dafs das Hühnchen aus einer einzigen Zelle, der Eizelle, sich entwickle, und dafs es nicht schon in allen Teilen in der ersten Henne, wenn auch nur en miniature, fertig angelegt gewesen sei.

Diese uns heute so lächerlich erscheinende Vorstellung hat allerdings einen richtigen Kern. Wir nehmen heut' an, dafs die molekulare Struktur der Eizellen der früheren Geschlechter sich fast unverändert auf die heutigen Generationen vererbt hat.

Im Jahre 1831 macht Robert Brown, der gröfste Systematiker seiner Zeit, die für die Geschichte der Zellenlehre so bedeutsame anatomische Entdeckung des Zellkerns. Später untersucht Matthias Schleiden dessen Bedeutung bei der Entwicklung der Pflanzenzelle. Eine gelegentliche Mitteilung seinem Freunde Schwann gegenüber bringt diesen auf den Gedanken, dafs ein ähnliches Gebilde in dem Gewebe des Rückenstranges (chorda dorsalis) vielleicht auch ein Zellkern sein möge. Beide Forscher begeben sich unmittelbar nach diesem Gespräch in das anatomische Laboratorium — Schwann war damals Arzt in Berlin —, und da erklärt Schleiden, dafs der fragliche Kern genau so aussehe, wie der Zellkern der Pflanzenzelle. Ein paar Jahre später, 1839, veröffentlicht Schwann seine „Untersuchungen über die Übereinstimmung in der Struktur und dem Wachstum der Tiere und Pflanzen". Hier zeigt er, dafs beide aus Zellen aufgebaut sind, ferner, dafs namentlich die Eizellen beider sehr übereinstimmen und in fast gleicher Weise sich fortpflanzen. Diese, sowie die kurz vorher erschienene Arbeit Schleidens: „Beiträge zur Phytogenesis", machten das gröfste Aufsehen. Sie bezeichnen den Anfang einer Periode der naturwissenschaftlichen

Forschung, in welcher dem Studium der Entwicklungsgeschichte der Lebewesen eine bevorzugte Stellung eingeräumt wird. Schleiden stellt u. a. die zwei Grundsätze auf:

1. Alle Gestaltungen und Formen, die die Pflanze im fertigen Zustand zeigt, sind unverständlich, wenn man nicht ihre Entwicklung von den ersten Anfängen an verfolgt.

2. Alle Entwicklung und das Leben der Pflanzen finden ihre Erklärung in dem Leben der Zellen.

Was Schleiden für den pflanzlichen Organismus begründete, das suchte Schwann auch für den tierischen nachzuweisen. So sehr die nachfolgenden Forschungen auf diesen beiden Gebieten gemäfs der Verschiedenheit von Tier und Pflanze auch divergierten, die Zellenlehre ist das Bindeglied geblieben, an dem sie immer wieder zusammenkommen.

Der Name Schwann verdient hier noch in anderer Beziehung Erwähnung. Er war nämlich der erste, welcher die Lehre von der Urzeugung, der sogenannten generatio aequivoca, experimentell widerlegte. Diese Lehre reicht sehr weit zurück, bis auf Aristoteles. Darnach sollten z. B. die Würmer aus dem Schlamm, die Mücken aus dem Wasser, die Flöhe aus Sand oder aus Sägespänen, die Maden in der Kirsche, im Fleisch, Käse u. s. w., die Eingeweidewürmer im Darm, der Leber, der Niere u. s. w. ohne weiteres entstehen können. Auch gärungs- und fäulnisfähige Substanzen sollten ihre Fäulniskeime selbst hervorbringen, wie das Wasser die Infusionstierchen. Noch Schleiden glaubte an die generatio aequivoca und speciell für die Hefezelle suchte er sie nachzuweisen. Die Zelle faſste er als eine Art organischen Krystall auf, der sich aus einer eiweifs- und zucker- oder dextrinhaltigen Mutterlauge ausgeschieden. Bei der Bildung der Hefezelle aus Traubensaft scheiden sich nach seiner Meinung krystallinische Körper von kugeliger Form aus; um diese, den Kernkörperchen der Zelle entsprechenden Elemente, bilde sich dann eine für Flüssigkeiten durchlässige (permeable) Lamelle.

Ehrenberg untersuchte mit peinlicher Sorgfalt auf seinen Reisen in Afrika und Asien den reinen Tau, später Schneekrystalle und die ersten Tropfen der Gewitterregen, konnte aber niemals darin eines der kleinen mikroskopischen Geschöpfe finden.

Schwann wies nach, dafs die Ursache einer jeden Fäulnis und Gärung Infusorien resp. Hefen seien. Wenn Flüssigkeiten gären, sagt er, dann sind Gärungskeime von vornherein darin enthalten gewesen, oder sie sind nachträglich aus der Luft oder sonstwie dazu getreten. Um dies zu beweisen, kochte er gärungsfähige Flüssigkeiten und schützte sie nachher vor dem Luftzutritt bezw. liefs nur Luft zutreten, die ein glühendes Rohr passiert

hatte. Der Erfolg war ein Ausbleiben von Gärung und Fäulnis. Wurde die erhitzte Luft aber mit gewöhnlicher vertauscht, dann kamen diese wieder zum Vorschein. In der Folgezeit wurden jedoch vielfach Fälle mitgeteilt, wo trotz Kochens der Flüssigkeit und trotz des Zutritts geglühter oder durch Watte keimfrei gemachter Luft doch wieder Gärung und Fäulnis eintrat. Hier ist es nun Pasteur, welcher die Zweifel an der Lehre Schwanns endgültig beseitigt, indem er zeigt, dafs das Mifslingen der Versuche behoben werden kann, wenn man die gärungsfähige Flüssigkeit nur genügend lange kocht. Schwann beobachtet die Vermehrung der Hefe (die er als „Zuckerpilz" bezeichnet) durch Knospung. Unabhängig von ihm machte gleichzeitig auch Cagniard Latour dieselbe Beobachtung[1]), ohne jedoch die Hefe als Ursache der Gärung anzusprechen, wie es Schwann 1837 zuerst gethan. Schwann konstatierte bei der mikroskopischen Untersuchung von Bier- und Weinhefe die einzelnen Wachstumsstadien derselben. „Das Ganze ist ohne Zweifel eine Pflanze," sagt er. Den Zusammenhang zwischen der Weingärung und der Entwicklung des Zuckerpilzes bezeichnet er als unverkennbar: „Die Weingärung wird man sich demnach vorstellen müssen als diejenige Zersetzung, welche dadurch hervorgebracht wird, dafs der Zuckerpilz dem Zucker und einem stickstoffhaltigen Körper die zu seiner Ernährung und zu seinem Wachstum nötigen Stoffe entzieht, wobei die nicht in die Pflanze übergehenden Elemente dieser Körper (wahrscheinlich unter mehreren anderen Stoffen) vorzugsweise sich zu Alkohol verbinden." Mit dieser Anschauung deckt sich die von Pasteur, wonach die Alkoholgärung ein Akt ist, der in Wechselwirkung mit dem Leben und der Organisation der Hefekügelchen steht und nicht mit dem Tode oder der Fäulnis der Kügelchen; ebensowenig ist er als eine Kontakterscheinung aufzufassen, wo die Umwandlung des Zuckers in Gegenwart eines Fermentes stattfände, ohne ihm etwas zu geben, noch etwas von ihm zu nehmen. Pasteur hat später den einzelnen Gärungserregern ein eingehenderes Studium gewidmet und daneben die praktische Nutzanwendung aus den Prinzipien der Sterilisation und Infektionsverhütung für das Gärungsgewerbe gezogen.

Wir müssen nun noch mit ein paar Worten den weiteren Entwicklungsgang, den die mikroskopische Forschung genommen hat, schildern.

Die durch Schleiden gegebenen Anregungen hatten zunächst ein eifriges Studium der entwicklungsgeschichtlichen Thatsachen im Gefolge. Hatte bereits früher die Entdeckung überrascht, dafs die verschieden gestalteten Pflanzenformen, von den Riesenbäumen Kaliforniens bis zum

---

[1]) Eine sehr gute Übersicht über „Die geschichtliche Entwicklung unserer Kenntnisse von Fäulnis und Gärung" hat 1885 Dr. Cosmas Ingenkamp in der Zeitschrift für klinische Medizin, Bd. X, Heft 1 u. 2, gegeben.

kleinsten Pflänzchen, aus ziemlich denselben Zellenformen bestehen, so war man nicht weniger erstaunt, als sich herausstellte, dafs auch die Entwicklung von Angehörigen der verschiedensten Pflanzengruppen, bei mancherlei Abweichungen im einzelnen, in mehr oder weniger ähnlichen Bahnen sich vollzieht. Hofmeister deckt 1851 auf Grund sorgfältiger Untersuchungen die verwandtschaftlichen Beziehungen der höheren Kryptogamen, denen die Moose, Farnkräuter und Schachtelhalme angehören, auf, zeigt, dafs hier ähnlich, wie kurz vorher für gewisse Gruppen im Tierreich nachgewiesen, ein Generationswechsel stattfindet. Auch die Kluft zwischen den höheren Kryptogamen, Pflanzen ohne sichtbare Blüten, und den Phanerogamen, Pflanzen mit sichtbaren Blüten, wird durch das eingehende Studium der Samenbildung bei den Nadelhölzern überbrückt; ferner wird betont, wie gerade in der Befruchtung und Keimbildung die verwandtschaftlichen Beziehungen am besten zum Ausdruck gelangen. Als Darwin für das Tierreich die Descendenztheorie aufstellte, waren in der botanischen Wissenschaft die verwandtschaftlichen Beziehungen der wichtigsten Pflanzengruppen untereinander auf Grund der vergleichenden Anatomie und Entwicklungsgeschichte schon klargelegt, deren Grundlagen im Anfang des Jahrhunderts von Lamarck geschaffen worden waren.

Die Thatsache, dafs jedes Individuum mit einer Eizelle sein Leben beginnt, also mit der denkbar einfachsten Organisation, und dafs durch schrittweise Entwicklung immer höhere Organisationsstufen erreicht werden, wurde in Vergleich gestellt mit der durch die Forschungen der Geologie und Paläontologie erwiesenen Thatsache, dafs in den frühesten Erdepochen auch nur Pflanzen und Tiere von niedriger Organisation gelebt haben. Die Periode, in der unsere Steinkohlen aus Farnkräutern, Schachtelhalmen, Bärlappgewächsen und Nadelhölzern sich bildeten, kannte noch keine Blumen, auch keine Säugetiere.

Gegenüber den Anhängern der Lehre von der Konstanz der Arten wurde der Beweis zu erbringen versucht, dafs sowohl durch natürliche, wie künstlich geschaffene Bedingungen die pflanzlichen und tierischen Geschöpfe mehr oder weniger leicht zur Variation zu bringen sind. Derartige Bestrebungen reichen bis in die Gegenwart, und nicht unerwähnt soll hier bleiben, dafs gerade die Hefenpflanze ein wichtiges Versuchsobjekt dargeboten hat.

Von den zahlreichen Arbeiten, welche anatomische, entwicklungsgeschichtliche und systematische Untersuchungen über uns näher interessierende Pflanzenarten enthalten, sei besonders auf zwei aufmerksam gemacht: auf Brefelds „Untersuchungen aus dem Gesamtgebiet der Schimmelpilze“ und auf „Beiträge zur Kenntnis der Gerste“ von Holzner und Lermer. In dieser letzteren Monographie finden wir Aufschlüsse, wie eine höher entwickelte Pflanze, wie die Gerste, allmählich zu ihrer

vollendeten Organistation heranreift. Für Studierende der Gärungswissenschaft, die mit den Grundzügen der Botanik bekannt sind, wird das Studium dieses Werkes ein aufserordentlich anregendes sein.

Neben den entwicklungsgeschichtlichen und den daneben laufenden systematischen Forschungen hat aber auch noch der Ausbau der Zellenlehre uns einen tiefen Einblick in das Wirken der Natur gewährt. Es gab eine Zeit, wo man das Zellgerüst als das Wesentliche der Pflanze bezeichnete. Man gewahrte nun aber bald, dafs man wohl unterscheiden müsse zwischen abgestorbenen und lebenden Zellen. Was bedingt wohl diesen Unterschied? Man beginnt den Zellinhalt näher ins Auge zu fassen. Mohl erkennt 1844 in der schleimigen Masse, in welcher der Zellkern eingebettet liegt, den Urbildungsstoff, die lebengebende Substanz, die er Protoplasma nennt. 1850 wird von Cohn und Unger gezeigt, dafs das Protoplasma gewisser Pflanzen, niederer Algen, identisch sei mit der Substanz, welche der französische Zoologe Dujardin 1841 im Körper der Infusorien oder Aufgufstierchen nachgewiesen und als Sarkode bezeichnet hatte.

Die Eigenschaften des Protoplasmas der Pflanzenzelle wurden hauptsächlich von Nägeli und Mohl, der tierischen Zelle von Kühne und Max Schulze studiert. Während die Zelle ursprünglich nur als anatomisches Elementarorgan betrachtet wurde, wurde sie namentlich durch Virchow auch als physiologisches Organ studiert. In seiner berühmt gewordenen „Cellularpathologie“ hatte er darauf hingewiesen, wie die Krankheiten aus abnormalen Thätigkeiten der einzelnen Zellen zu stande kämen.

Vor einigen Jahrzehnten schien die Lehre von der Zelle zu einem gewissen Abschlufs gekommen zu sein; da wurden die homogenen Immersionssysteme erfunden, die das Mikroskop noch leistungsfähiger machten. Seitdem wird gewissermafsen der molekulare Aufbau der Zelle erforscht. Da aber nach einer Berechnung der kleinste Punkt, der mit der stärksten Vergröfserung noch sichtbar ist, immer noch ca. 2 Billionen Moleküle umgrenzen soll, wird unser Auge bis zum Molekül nie vordringen. Aber manche Strukturverhältnisse des Protoplasmas fallen doch noch in die Grenze des Sichtbaren; manches von den sichtbaren Teilchen vermögen wir aber allerdings auch noch nicht zu deuten.

Die ganze Bewegung des Studiums der Organisation des Protoplasmas ist ausgegangen von der Betrachtung tierischer Eizellen. An den verhältnismäfsig grofsen und durch die durchsichtige Leibeswand hindurch dem Mikroskop leicht zugänglichen Eizellen der Fadenwürmer (wozu unser Spulwurm, die Trichine u. s. w. gehören) beobachteten Auerbach und Schneider in Breslau 1874 die einzelnen Stadien der Teilung des Zellkernes. Man führte

weiterhin den Nachweis, dafs die Zellkernteilung und Zellteilung in ursächlichem Zusammenhang stünden; auch bei der freien Zellbildung, bei der sich aus dem vorhandenen Plasma eine gröfsere Anzahl Sporen bilden, wurde für die meisten Fälle die Beteiligung des Zellkernes nachgewiesen.

Bei den Pflanzenzellen machte man später ähnliche Erfahrungen. Ferner wurde bei dem Befruchtungsvorgang beobachtet, dafs die Befruchtung gewissermafsen erst perfekt wird, wenn der Zellkern der männlichen Zelle und der weiblichen sich vereinigt haben.

In Bezug auf die Pflanzen ist die Zellenlehre vor allem durch das eingehende Studium der kryptogamischen Gewächse gefördert worden. Da dieselben vielfach einzellig sind oder aus einer nur geringen Zellenzahl bestehen, lassen sich hier die Vorgänge bei dem Wachstum, bei der Befruchtung und bei der Vermehrung ziemlich genau verfolgen. Inauguriert wird diese Forschung am Ende des vorigen und am Beginn dieses Jahrhunderts durch die Beobachtungen eines Pastor Vaucher in Genf an Süfswasseralgen. Nach ihm ist die Süfswasseralge Vaucheria benannt. Weiterhin ist Professor Hedwig zu nennen, der in Siebenbürgen thätig war, und über Flechten und Moose viel gearbeitet hat. Hervorragend, obgleich noch mit manchen Irrtümern behaftet, sind die Untersuchungen Ehrenbergs, geb. 1795, † 1876. Er führt uns durch Wort und Bild ein in den Reichtum der Formen der mikroskopischen Lebewelt. Er verfolgt ihr Vorkommen im Wasser, im Staub der Atmosphäre, im Schlamm der Gewässer; er weist darauf hin, wie gewaltig sich einzelne mikroskopische Arten an dem geologischen Aufbau unserer Erdoberfläche beteiligen oder in verflossenen Äonen schon beteiligt haben, so die Kieselalgen, oder die Schalentierchen, oder die Korallen, welche ganze Erdschichten resp. Gebirgsmassen gebildet haben. „Mikroskopische Analyse des Meteorpapiers", „Passatstaub und Blutregen, ein grofses organisches unsichtbares Wirken und Leben in der Atmosphäre", „Mikrogeologie", „Das Erden und Felsen schaffende Wirken des unsichtbar kleinen selbständigen Lebens auf der Erde" 1854, mit über 141 Tafeln, „Die Infusionstierchen als vollkommene Organismen" 1838, mit über 60 kolorierten Tafeln, so betiteln sich 4 seiner interessantesten Schriften. Seine Ansicht, dafs die Infusionstierchen wie vollkommenere Tiere besondere Organe (wie Magen, Leber, Hoden, Ovarien) für Verdauung, Sekretion, Fortpflanzung besitzen, wurde später dahin berichtigt, dafs es nur einzellige Wesen seien, deren Zellenleib allerdings differenziert und befähigt ist, die verschiedensten Funktionen zu erfüllen.

Ehrenberg findet die Ursache des Meerleuchtens in dem Vorkommen leuchtender Infusionstierchen (über 100 Arten derselben giebt

er bekannt). Er weist nach, dafs an der zeitweisen Rotfärbung des Wassers an den Küsten des roten Meeres rotgefärbte Algen und Annulaten beteiligt sind. Er erklärt die Entstehung des Mannataues: Eine der Cochenillelaus verwandte Art bewirkt durch ihren Stich das Auströpfeln des Saftes (namentlich nach regnerischen Tagen) vom Tarfastrauch (einer Tamariskenart); der gelbe Saft, honigähnlich schmeckend, erhärtet im Boden zu kleinen Körnern, die die Eingeborenen zum Brote essen und die Mönche des Klosters sammeln, um sie den Reisenden teuer zu verkaufen.

In der zweiten Hälfte dieses Jahrhunderts beginnt man auch mit dem Studium der für uns wichtigen Gruppe der Pilze. Auf die Pasteurschen Forschungen ist schon hingewiesen worden. Bail untersucht gärende Würzen und studiert die darin vorkommenden Hefen, für die er schon verwandtchaftliche Beziehungen zu höheren Schimmelpilzen mutmafst. Seine Abhandlung „Über Hefe" (De faece cerevisiae) 1857 ist noch heute lesenswert. De Bary, Brefeld und Rees eröffnen uns tiefe Einblicke in die Lebewelt der Pilze; gelegentlich beschäftigen sie sich auch eingehender mit der Hefe. Brefeld führt die Reinkultur als neues Glied der Untersuchungsmethoden ein; Hansen wird durch Anwendung der Reinkultur der Reformator auf dem Gebiete der Hefeorganismen, wie Koch auf dem der Bakterien.

Wir sind bei dem Überblick über den allgemeinen Gang der mikroskopischen Forschung bei der Gegenwart angelangt. Wir erkennen dankbar die bedeutsame Rolle, welche das Mikroskop für unsere wissenschaftliche Erkenntnis gespielt hat, an und haben allen Grund, von seiner konsequenten Anwendung im Gärungsgewerbe auch weiterhin wichtige Aufschlüsse zu erwarten. Seit Einführung der homogenen Immersionen und besonders seit Einführung der sogenannten apochromatischen Systeme ist das Mikroskop seiner höchsten Leistungsfähigkeit wohl ziemlich nahe gekommen. Ein wertvoller Bundesgenosse ist dem Mikroskop in der Mikrophotographie erwachsen. Auch für die Gärungsorganismen ist diese schon verschiedentlich in Anwendung gebracht worden; die mikroskopische Sammlung der Berliner Versuchsstation umfafst bereits an tausend Photogramme der für das Gärungsgewerbe wichtigen Arten. Eine solche Sammlung ermöglicht nicht nur einen wissenschaftlichen Zwecken dienenden genaueren Vergleich der einzelnen Formen untereinander, sie ermöglicht auch eine schnelle Orientierung über jahrelange Erfahrungen auf diesem umfangreichen Gebiet. Besonders lehrreich ist die Vorführung dieser Bilder während eines Projektionsvortrages. Hier wird jedes einzelne Bild mit Hilfe eines Skioptikons auf einen weifsen Schirm projiziert und so einem grofsen Zuhörerkreis gleichzeitig sichtbar gemacht und erläutert.

Mikroskopische Übungen.

§ 4. Das Mikroskop und seine Handhabung.

Für den Gärungspraktiker genügen mittlere Mikroskope mit Vergrößerungen bis 900 fach linear. Der Preis eines solchen stellt sich je nach der Ausstattung auf 120—250 Mk. Die Hauptsache sind gute Glaslinsen; ohne sie ist der äußere Aufputz wertlos. Bei dem Ankauf wende man sich an renommierte Firmen, die nur geprüfte Instrumente abgeben, oder man lasse das Instrument von geeigneten Sachverständigen erst begutachten. Die Bauart ist bei den Erzeugnissen der verschiedenen optischen Werkstätten nicht immer die gleiche; für den Betrieb eignen sich am besten Mikroskope mit kräftigen Stativen. Je einfacher die Konstruktion, je weniger Schrauben und Hilfsvorrichtungen angebracht sind, desto handlicher wird auch das Instrument sein. Über den Mechanismus eines solchen wird man auch ohne besondere Belehrung klar werden. Es wird sich hier nur um die Bezeichnung und speciellere Bedeutung der einzelnen Teile handeln.

Wer genauer sich über das Zustandekommen des optischen Bildes und der Vergrößerung unterrichten will, den verweisen wir auf folgende Litteratur: O. Bachmann: „Unsere modernen Mikroskope“ (München 1884); Hager: „Das Mikroskop und seine Anwendung“ (Berlin, Julius Springer); Friedrich Merkel: „Das Mikroskop und seine Anwendung“ (München 1875); Wiesner: „Einleitung in die technische Mikroskopie“.

Hier soll der theoretische Teil nur bezüglich der wichtigsten Erscheinungen und in ganz populärer Form vorgetragen werden.

Wie ein Mikroskop aussieht, ist jedermann bekannt; wer die Absicht hat, sich eines zu kaufen, dem liefert jede optische Werkstätte gern einen Katalog, in dem zumeist viele und gute Abbildungen zu finden sind.

Hier bringe ich zunächst die Abbildung eines Mikroskopes, welches von vielen Brau- und Brennereibetrieben angeschafft worden, und welches auch beim Unterricht am Institut für Gährungsgewerbe ausschließlich in Gebrauch genommen ist [1]).

Das Mikroskop ist so gestellt, daß wir eine Seitenansicht haben. Das Fenster, von dem es das Licht erhält, ist rechts zu denken. Der Mikroskopfuß hat die Form eines Hufeisens. Auf ihm durch eine kräftige Schraube befestigt ist das Rückgrat des Mikroskops, das sowohl den Objekttisch als auch die Mikroskopröhre oder den Tubus trägt. Letzteren sehen wir in seiner Mitte von der Hülse umfaßt, die ihrerseits vermittelst eines Querbalkens mit der Säule in Verbindung

[1]) Näheres findet man in dem Katalog der Glasbläserei des genannten Institutes.

steht. Die Hülse ist bei einfachen Mikroskopen zumeist mit einem geölten Tuch ausgekleidet, damit der Tubus nicht nach unten durchgleitet und damit andererseits auch die Reibung nicht zu grofs wird. Letzterer kann nach oben ganz herausgezogen resp. herausgeschraubt werden. Hierbei gebrauche man die Vorsicht, die Hülse fest zu umklammern, damit der Querbalken nicht zu sehr in Mitleidenschaft gezogen wird. Man gewöhne sich von Anfang an daran, den Tubus immer nur vermittelst einer drehenden Bewegung auf- und abwärts zu verschieben. Bei gröfseren Stativen wird die Hülse und mit ihr zugleich der Tubus durch eine besondere Vorrichtung hoch und nieder geschraubt. Der Tubus besteht aus zwei ineinander passenden Röhren, von denen die eine am unteren Ende ein kleines Gewindestück trägt, an welches die Objektive geschraubt werden können, während die andere gerade abgeschnitten ist und zur Aufnahme der Okulare dient. Wir arbeiten gewöhnlich mit ausgezogenem Tubus. Mit der Länge des Tubus wächst die Vergröfserung.

Abb. 4.
Einfaches Mikroskop.

Beim Wechseln der Objektive ist es nicht unbedingt nötig, den Tubus aus der Hülse ganz herauszuziehen. Findet man es aber bequemer, dann achte man auch darauf, dafs das Okular nicht aus der oberen Röhre herausfällt. Stärkere Erschütterungen können die Gläser nicht vertragen; das gilt insbesondere von den Objektiven, bei denen die kleinen Glaslinsen aufserordentlich fein gefafst sind. Bei dem An- und Abschrauben der Objektive läfst der Anfänger öfter die obersten Glieder derselben am Gewindeteil sitzen und schraubt dann das andre Objektiv darauf. Hier wird er nachher allerdings vergeblich nach einem Bild suchen. Man vermeide beim Anschrauben jede Gewalt.

Unser Mikroskop enthält drei Objektive, die mit den Zahlen 3, 7, 10 bezeichnet sind; die ersteren beiden sind „Trockensysteme", das Objekt 10 dagegen ein „Wasserimmersionssystem", bei dessen Anwendung ein Tropfen Wasser den Zwischenraum zwischen Präparat und Objektiv ausfüllt. Wertvollere Mikroskope besitzen Ölimmersionssysteme. Hier tritt ein Tropfen Öl — gewöhnlich Cedernöl — an die Stelle des Wassers.

Statt Objektiv 3, 7 oder 10 sagen wir auch „System" 3, 7 oder 10.

Das System 10 vergröfsert am stärksten und ist auch das bei weitem wertvollste; es läfst jedoch durch seine glasperlengrofse Frontlinse nur wenig Licht in den Tubus eintreten. Bei System 3 genügt zumeist schon das vom Flachspiegel zurückgeworfene Bündel paralleler Strahlen, um das Präparat genügend zu beleuchten; bei System 7 und 10 jedoch wird ein Zusammendrängen aller Lichtstrahlen in einen Punkt des

Präparates mit Hilfe des Hohlspiegels nötig sein, um genügend Helligkeit ins Gesichtsfeld zu bekommen.

Je mehr Linsen ein System enthält, je gröfsere Lichtverluste treten auf, da jede glatte Fläche einen Teil der Strahlen wieder zurückspiegelt. Durch ein Doppelfenster erscheint uns die Landschaft draufsen weniger hell, als durch ein einfaches oder gar durch ein geöffnetes Fenster. Noch trüber wird das Bild, wenn die Fenster lange nicht geputzt sind. So auch im Mikroskop, wenn die Objektive oder Okulare beschlagen oder verstaubt sind.

Erst wenn alle Gläser sauber gemacht worden sind, gehe man ans Mikroskopieren.

Bei den starken Systemen 7 und 10 ist es oft nicht leicht, mit bloſsem Auge die daran haftenden oder klebenden Verunreinigungen zu erkennen. Hier bediene man sich des Systems 3 als Lupe.

Auch die untere abschraubbare Linse der beiden Okulare, die bei unserem Mikroskope mit 2 und 3 bezeichnet sind, kann hierzu benutzt werden.

Zum schnellen Wechseln der Objekte ist bei gröfseren Stativen oft ein sog. „Revolver“ angebracht, an welchem die Objektive bereits angeschraubt sind. Neuerdings kommen auch sogenannte Schlitten-Objektivwechsler mit Vorteil zu dem gleichen Zweck in Anwendung.

Der Querbalken und mit ihm Hülse und Tubus wird mit Hilfe der Mikrometerschraube, die in dem Rückgrat des Stativs angebracht ist, auf und nieder bewegt. Bei dieser Bewegung tritt eine Spiralfeder in Thätigkeit, die in dem Rückgrat eingeschlossen liegt und dem Ende des Querbalkens aufliegt.

Bei gröfseren Mikroskopen ist die Mikrometerschraube mit einer Kreisteilung versehen, durch welche die Gröfse der Drehung und infolgedessen auch die Hebung und Senkung des Tubus genau bestimmt werden kann.

Wir kommen jetzt zum Objekttisch. Derselbe ist durchlocht und trägt unterhalb die Blendvorrichtung, die entweder eine kugelförmig, gewölbte Blechscheibe mit verschieden weiten Löchern darstellt, oder die Form eines Cylinders hat, der in die Durchlochung des Objekttisches pafst. Eine dritte Form ist noch die sogenannte Irisblendung, die eine aus beweglichen Teilstücken zusammengesetzte Scheibe darstellt. Durch einen besonderen Mechanismus verengt oder erweitert sich hier, wie eine Pupille, die in der Mitte befindliche Öffnung. Unter der Blendvorrichtung sitzt die Spiegelvorrichtung. Wir haben auf der einen Seite einen flachen, auf der anderen einen Hohlspiegel. Dem Spiegel kann jede Lage gegeben werden, so dafs wir stets im stande sind, Licht von überall her aufzufangen und durch die Blendöffnung zu werfen.

Gröfsere Mikroskope führen zwischen Objekttisch und den Spiegeln noch besondere Beleuchtungsapparate, sogenannte Kondensoren, aus denen das Licht in einem breiten Strahlenkegel hervorschiefst, dessen Spitze in das Präparat zu liegen kommt.

Das Anfertigen und Einstellen eines Präparates.

Allgemeine Beobachtungen. Wir bringen auf einen Objektträger etwas Graphitstaub von einem Bleistift, verrühren mit einem kleinen Tropfen Wasser und geben ein dünnes Deckgläschen darauf. Sofern bei einem zu grofs gewählten Tropfen etwas Wasser unter dem Deckgläschen hervorquillt, saugt man den Überschufs mit einem Streifen Filtrierpapier ab. Diese Staubkörnchen wollen wir in das Gesichtsfeld des Mikroskopes zu bekommen suchen. Wir wählen zunächst die schwächste Vergröfserung; hierbei kombinieren wir das schwächste Okular (2) und das schwächste Objektiv (3). Nun heifst es, den richtigen Abstand zwischen Objekt und Objektiv herauszufinden. Man gewöhne sich ein für allemal an, das Objektiv vorsichtig bis auf kaum 1 mm Entfernung dem Präparat zu nähern. Dann entfernen wir das Okular und sehen zu, ob in den Tubus genügend Licht von unten hereinscheint; wenn nicht, so drehen wir den Spiegel so lange, bis wir die gröfste Helligkeit ausfindig gemacht haben. Dann setzen wir wieder das Okular auf. Für schwache Vergröfserungen ist das Licht ausreichend, welches uns der Flach- oder Planspiegel hergiebt; bei stärkeren Vergröfserungen werden wir jedoch den Hohl- oder Konkavspiegel anwenden. Bei Sonnenschein vermeide man, dafs direktes Sonnenlicht den Spiegel treffe; aufser dafs die Augen stark geblendet werden, kann leicht ein Nachteil noch an den Glaslinsen sich einstellen durch bedeutende Temperatursteigerungen, indem die einzelnen Linsen wie Brenngläser wirken. Am vorteilhaftesten ist das reflektierte Sonnenlicht, das uns eine weifse Wolke liefert. Liegt das Fenster, an dem man mikroskopiert, nach Norden, so ist dies besonders günstig, weil hier direktes Sonnenlicht ausgeschlossen ist.

Abb. 4a. Grofses Mikroskop von Carl Zeifs, Jena.

In der südlichen Hemisphäre ist die Südseite zu wählen, da ja dort die Sonne im Norden steht. An wolkenlosen Tagen giebt der blaue Himmel nur wenig weifses Licht her. Am besten ist es dann, ein von der Sonne beschienenes Fenster mit einem weifsen Vorhang zu versehen und auf diese weifse Fläche den Spiegel zu richten. In einfacherer Weise kann man so vorgehen, dafs man einen Bogen dünnen Putzpapiers (sogenanntes Josefpapier) an den Fensterscheiben mittelst gummierter Papierstreifen festklebt, oder ihn mit einem nassen Schwamm andrückt.

Sehen wir nun das Gesichtsfeld hell genug, so fassen wir mit der linken Hand die Hülse, mit der rechten den geriefelten Ring des Tubus an und drehen diesen allmählich schraubenförmig in die Höhe, bis wir zunächst Schatten, dann ein mehr oder weniger scharfes Bild ankommen sehen. Nach dieser groben Einstellung beginnt die sogenannte feine, zu der wir uns der Mikrometerschraube bedienen. Die Graphitkörnchen erscheinen als eckige, schwarze, stellenweis völlig undurchsichtige Körper, die jedoch stellenweis auffallende Lichtstrahlen reflektieren und dadurch etwas glänzend erscheinen.

Häufig erscheinen uns schwarze Punkte oder Streifen im Gesichtsfelde, die bei jeder Verschiebung des Objektträgers an derselben Stelle verbleiben. Hier liegt dann eine Verstaubung der Glaslinsen vor, aber wo? Wir drehen zunächst am Okular. Bewegen sich die schwarzen Punkte mit, dann haben wir die Gewifsheit, dafs der Staub an den Linsen des Okulars sitzt. Dieses läfst sich leicht auseinandernehmen und reinigen. Schwieriger ist dies bei den Objektiven, zumal wenn der Staub nicht nur an den äufseren, für das Leinwandläppchen zugänglichen Glasflächen sitzt. Bei wertvollen Objektiven überläfst man die Reinigung besser dem Optiker.

Die Leinwand, die wir zum Reinigen benutzen, ist um so geeigneter, je älter, resp. je mehr ausgewaschen und weicher sie ist. Statt ihrer kann man sich auch weicher Lederläppchen oder des sogenannten Josefpapiers bedienen.

Mitunter giebt uns auch die feine Einstellung kein scharfes Bild. Hier liegt der Fehler zumeist an einer Verschmutzung der untersten Linse entweder durch den Abdruck fettiger und schweifsiger Finger, oder durch eingetrocknete Flüssigkeitstropfen, wie Würze, Bier, Säuren, Laugen oder Wasser, oder durch Vaseline.

Hier ist nachdrücklich zu betonen, dafs die Linsen durch einzelne von diesen Flüssigkeiten angegriffen und geschädigt werden können.

Am meisten gefährdet sind die Objektive, wenn sie bei unvorsichtigem Herunterschrauben des Tubus auf das Präparat aufstofsen; hierbei geht häufig die unterste Linse aus der Fassung oder sie wird

gar zertrümmert. Man lasse sich die Mühe nicht verdrieſsen, durch seitliches Neigen des Kopfes die allmähliche Annäherung des Objektivs an das Präparat aufmerksam mit den Augen zu verfolgen. Bei längerer Übung lernt man den Mindestabstand für die einzelnen Objektive sehr bald nach dem Augenmaſs richtig abzuschätzen. Besonders schwierig ist diese Schätzung allerdings für die Immersionssysteme, nachdem diese in den auf das Deckgläschen gebrachten Tropfen Wasser oder Cedernöl oder eine optisch ähnlich wirkende Flüssigkeit getaucht worden sind. Hier wird man das Deckgläschen aufmerksam beobachten müssen; sobald die Einbettungsflüssigkeit auch nur wenig seitlich hervorzutreten beginnt, sind wir sicher, daſs das Immersionssystem schon die Oberseite des Deckgläschens berührt. Wir dürfen nunmehr die Mikrometerschraube nur noch so drehen, daſs sich der Tubus wieder hebt.

Die Immersionssysteme sind nach jedesmaligem Gebrauch sorgfältig abzuwischen. Bei Ölimmersionssystemen putzt man mit einem Läppchen, das mit Benzin getränkt war.

Falls der zum Präparat benutzte Objektträger, sowie auch das Deckgläschen nicht vorher gründlich gereinigt worden ist, wird durch diese Verunreinigungen das Bild leicht an Klarheit verlieren können. Um uns davon zu überzeugen, wollen wir auf einen zweiten Objektträger noch ein Deckgläschen legen; beide mögen absichtlich mit Staub belegt worden sein. Durch höhere oder tiefere Einstellung des Tubus bekommen wir 4 verschiedene Schichten mit Staubteilchen zu sehen: die beiden Seiten des Deckgläschens und die des Objektträgers.

Die Staubteilchen sind um so lästiger, je undurchsichtiger sie sind, da sie dann keine Lichtstrahlen mehr durchlassen. Das Gesichtsfeld wird dadurch etwas verdunkelt.

Wir wollen nunmehr die Gläser sauber abwischen und auf den Objektträger eine dünne Schicht Kartoffelstärke bringen. Zu dem Zwecke tupfen wir mit dem Finger zuerst in das Stärkemehl, dann auf den Objektträger. Bei der schwachen Vergröſserung erkennen wir letzteres als aus lauter kleinen Körnchen bestehend, die breite dunkle Säume haben, in der Mitte aber intensiv hell sind.

Wir legen nun das Deckgläschen auf und bringen an den Rand desselben mittelst eines Glasstäbchens einen Tropfen Wasser. Letzterer flieſst ohne weiteres von selbst unter das Deckgläschen und umspült die sämtlichen Stärkekörner. Wir bemerken zunächst, daſs die schwarzen Konturen nicht mehr so breit und die hellen Flecke nicht mehr so blendend erscheinen.

In konzentrierter Zucker- oder Salzlösung würde das Bild immer mehr verblassen, bis schlieſslich die Körner fast ganz im Gesichtsfeld

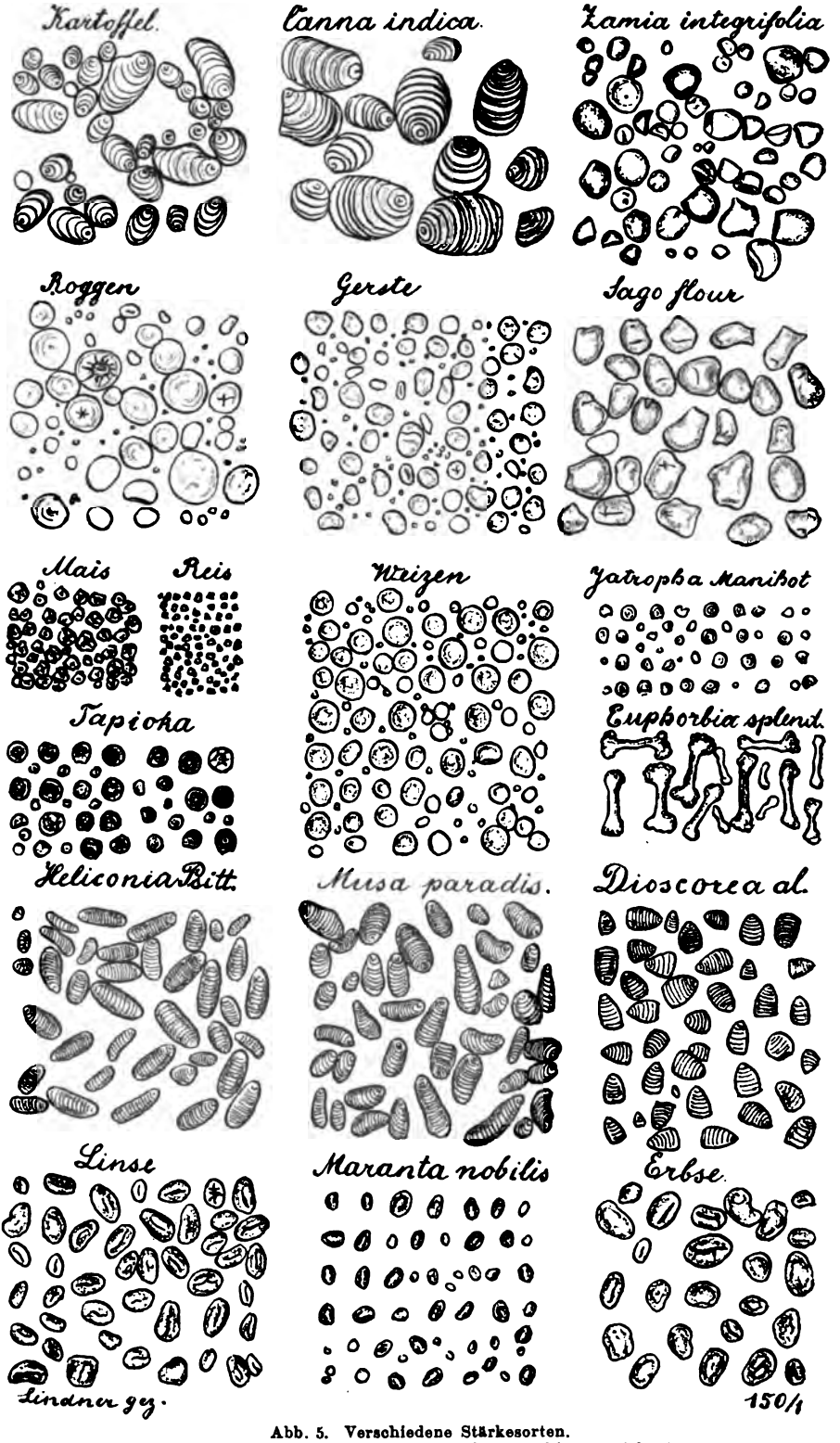


Abb. 5. Verschiedene Stärkesorten.
Sämtlich 150fach vergrößert; nach Photographien gezeichnet.

ausgelöscht werden. Wenn die Konzentration zu stark gewählt war, werden sie als mattscheinende Hohlräume in der lichtstarken Flüssigkeit erscheinen.

Die Thatsache, dafs die blendendweifse Stärke unter dem Mikroskop so schwarze Ränder zeigt, hat für den Anfänger etwas Befremdendes.

Woher kommt dieser Lichtverlust?

Die Frage ist sehr einfach beantwortet. Jedes Stärkekörnchen ist auf seiner Oberfläche so glatt wie etwa eine Glasperle, und diese krummen glatten Flächen werfen die Lichtstrahlen so weit zur Seite, dafs sie nicht mehr in die Linse des Objektivs hineinfallen. Ein Glasstab, den wir wagerecht gegen das Fenster hin betrachten, zeigt in gleicher Weise dunkle Streifen. Würden wir den Glasstab festklemmen, zur Seite treten und ihn nun betrachten, so würden wir die hellen Lichtstreifen sehen können, die vorhin gefehlt haben.

Sehen wir zu, wie sich der Glasstab verhält, wenn wir ihn in Wasser tauchen! Auch er erscheint nicht mehr mit so breiten, schwarzen Streifen am Rande. Ja, wenn wir ihn abtrocknen und in eine konzentrierte Zucker- oder Glycerinlösung, oder gar in Cedernöl eintauchen würden, so würde er jene so gut wie ganz verlieren, er selbst wird aber innerhalb der Flüssigkeit kaum mehr zu erkennen sein. Sobald diese genau das gleiche Lichtbrechungsvermögen besitzt, wie das Glas, gehen die Lichtstrahlen ungehindert ihren Weg, ohne reflektiert zu werden. Der Glasstab ist scheinbar in der Flüssigkeit verschwunden.

Hier und da im Gesichtsfeld des Präparates sehen wir aber auch gröfsere Kreise mit schwarzen Konturen, die nichts mit Stärkekörnern zu thun haben. Es sind Luftblasen; die kleineren derselben sind meist genau kreisförmig, die gröfseren durch den Druck des Deckgläschens mehr oder weniger unregelmäfsig.

Wir verstellen jetzt den Spiegel so, dafs von unten kein Licht mehr durch die Blendöffnung treten kann, oder wir schieben die Blendscheibe vor oder halten die Hand vor den Spiegel. Die einzelnen Körnchen, besonders die noch trocken liegenden, erscheinen in dem „auffallenden“ Licht wie kleine Glaskügelchen; auf den gekrümmten Oberflächen zeigen sich oft verkleinerte Bildchen des Fensters.

An Stelle von Stärkekörnchen bringen wir nunmehr Lupulinkörnchen vom Hopfen auf den Objektträger. Namentlich bei auffallendem Licht bieten diese ein farbenprächtiges Bild dar; wie durchsichtiges Gold oder Bernstein erscheinen die einzelnen Körnchen, an deren Aufsenseite man sehr gut eine netzförmige Zeichnung erkennt. Wenn wir die Abbildung 3 auf Seite 17 zu Rate ziehen, werden wir mit gröfserem Interesse die einzelnen Gebilde betrachten.

Wenn wir nicht gerade frisches Quellwasser verwenden, werden wir mit den Wassertropfen immer mehr oder weniger Bestandteile, die aus der Luft oder sonst woher ins Wasser gelangt sind, in das Präparat bekommen. Auf die wichtigsten und auffälligsten von diesen Dingen sei hier kurz eingegangen. Wir finden da Fäserchen, die von Kleidungsstücken sich losgelöst haben oder von dem Putzlappen, Stärkepartikelchen, die von gestärkter Wäsche oder von Getreidestaub herkommen, Federteilchen und Haare von Haustieren, Schuppen von Motten, Schmetterlingen, Speichelzellen, Muskelfasern, Pflanzenzellen, Membranen, Pilzsporen, Sand-, Rufsstaub, Fetttropfen u. dgl. m.

Um nicht von dem einen oder anderen dieser Gebilde bei späteren Untersuchungen überrascht zu werden, besorgen wir uns von vornherein Materialien, die diese Bestandteile enthalten. Wir untersuchen die Fasern des Putzleders oder der Leinwand oder des Josefpapiers oder unserer Kleidungsstücke [dabei lernen wir gleich die Unterschiede zwischen Pflanzen- und Tierfaser kennen (die Wollfaser unserer Kleider ist zumeist mit Farbstoffen imprägniert)]. Wir mikroskopieren Federteilchen der verschiedenen Geflügelarten, die Schuppen verschiedener Schmetterlinge (Motten), endlich auch unsern Speichel und den Inhalt eines hohlen Zahnes. Auf einige von diesen Dingen werden wir bei der Wasseruntersuchung noch ausführlicher zu sprechen kommen. Auch die mikroskopische Untersuchung unserer Fingerabdrücke auf dem Objektivträger oder Deckgläschen dürfen wir nicht unterlassen, da wir ihnen öfter begegnen werden.

Nachdem wir bereits einige Fertigkeiten im richtigen Einstellen des mikroskopischen Bildes erworben haben, wollen wir zu der Betrachtung eines „Probeobjektes“ oder „Testobjektes“ übergehen. Ein solches wird gewöhnlich den Mikroskopen beigegeben, damit man sich von der Leistungsfähigkeit derselben überzeugen kann. Unser Testobjekt ist ein Dauerpräparat, in dem, zwischen Objektträger und Deckgläschen in Glycerin oder in eine andere Flüssigkeit eingebettet und durch Lack nach aufsen abgeschlossen, eine Anzahl Kieselalgen, gewöhnlich Pleurosigma angulatum, sich befinden. Wir bemerken schon mit bloſsem Auge die einzelnen Individuen, wenn wir das Präparat gegen das Licht halten; sie erscheinen hierbei lebhaft in allen Farben spielend, „irisierend“. Mit schwacher Vergröſserung orientieren wir uns zunächst über die äufsere Gestalt, sowie über die ungefähre Anzahl der vorhandenen Individuen. Wir „suchen das ganze Präparat ab“. Hierbei wird uns, wie bei unsern ersten Präparaten, noch auffallen, daſs, wenn wir den Objektträger von rechts nach links schieben, im Gesichtsfeld die Bilder von links nach rechts vorüberziehen. Das mikroskopische Bild ist nämlich ein umgekehrtes, und müssen wir dem bei dem Absuchen des Präparates Rechnung tragen. Bei öfterer Übung gewöhnt man sich bald an diese Verkehrtheiten.

Die Kieselalgen eignen sich darum so vorzüglich zu Testobjekten, weil ihr Kieselpanzer aufserordentlich zarte Strukturdetails aufweist. Erst in neuester Zeit ist es gelungen, die genaue Bauart zu erkennen. Je klarer uns ein Mikroskop diese Details aufdeckt, desto besser ist es; namentlich ist auf die Leistung des stärksten Objektivs zu achten. Hier wird man allerdings noch mancherlei Kunstgriffe gebrauchen müssen, um möglichst viel aus dem Bild heraus zu bekommen.

Wir haben noch nichts Genaueres über den Zweck der Blendvorrichtung gesagt. Sie gestattet im Verein mit dem Plan- oder Hohlspiegel eine mehr oder weniger reichliche Lichtzufuhr zum Objektiv. Wir probieren sogleich die Wirkung einer kleinen und grofsen Blendöffnung auf ein bestimmtes Objekt, auf das wir das Mikroskop eingestellt haben, und kombinieren damit auch verschiedene Spiegelstellungen, z. B. so, dafs die Lichtstrahlen mehr gerade oder schräg das Präparat treffen. Wir achten auf die Schärfe der Konturen, auf die Tiefe der Schatten, auf die Farbenreinheit der Umrisse (ob farbige Säume vorkommen), auf die Wölbung des Bildes nach dem Rand zu, auf die Unterschiede der Feinheit zwischen dem Rand und den central gelegenen Partieen.

Eine reichliche Beleuchtung vertragen vor allem die gefärbten Teile eines Präparates. Je mehr Licht auf sie einstrahlt, um so leuchtender erscheinen sie im weifsen Feld. Die ungefärbten durchsichtigen Gebilde verschwinden dagegen fast ganz in der Lichtfülle, sie werden gleichsam ausgelöscht von den allseitig einfallenden Strahlen.

Wollen wir sie einigermafsen deutlich erkennen, so müssen wir möglichst paralleles Licht, wie es der Flachspiegel liefert, durch die enge Blendöffnung fallen lassen. Bei wolkenlosem Himmel zeichnen sich die Schatten scharf auf dem Boden, weil fast nur parallele Strahlen vorhanden sind. Bei vielen Wolken verblafst der Schatten. Bei völlig bewölktem Himmel, bei „diffusem Licht", hört er fast ganz auf.

Viele mikroskopisch kleine Gebilde sind so durchsichtig und in ihrer Lichtbrechung dem Wasser nahestehend, dafs sie überhaupt keinen Schatten werfen, daher von uns überhaupt nicht wahrgenommen werden können. Ein solches Beispiel liefern die Geifseln der Bakterien, die erst durch besondere Färbungsmethoden deutlich wahrzunehmen sind. Auch Hefezellen und Bakterien halten nur wenig Licht zurück, so dafs sie nur bei verhältnismäfsig schwacher Beleuchtung genauer studiert werden können. Daher bietet ihre photographische Abbildung auch besondere Schwierigkeiten.

Wir bemerken, dafs bei stärkeren Vergröfserungen sich das Bild mit der geringsten Drehung der Mikrometerschraube schnell ändert (letztere soll sehr leicht gehen und ein feines Gewinde haben). Wir empfinden erst bei den stärkeren Vergröfserungen eine gewisse Un-

vollkommenheit des Mikroskops, nämlich dafs wir gewissermafsen nur immer einen ganz dünnen Horizontalabschnitt des Objektes klar zu sehen bekommen, und dafs wir die bei der Drehung der Mikrometerschraube nacheinander auftretenden Bilder erst durch unsere geistige Thätigkeit kombinieren müssen, wenn wir eine richtige Gesamtvorstellung von dem Objekt bekommen wollen.

Was die Beurteilung der Güte eines Mikroskops anlangt, so ist schon bemerkt, dafs ein Laie im Mikroskopieren sich nicht zutrauen darf, ohne weiteres mit Hilfe eines Probeobjektes dieselbe bestimmen zu wollen.

Unter Umständen werden Mikroskope mit enormer Vergröfserungsfähigkeit angepriesen; die Zahlen beziehen sich dann aber nicht auf die lineare, sondern auf die Flächenvergröfserung. Ein Meter ist 100 mal so lang wie 1 cm; 1 qm fafst aber $100 \times 100 = 10\,000$ qcm. Linear hätten wir hier eine 100fache Vergröfserung, nach der Fläche eine 10 000fache Vergröfserung. Immersionssysteme, die über 1000fache Vergröfserung liefern, sind für die Zwecke der Betriebskontrolle nicht unbedingt nötig, und wäre auch das Arbeiten mit denselben viel zu umständlich.

Im allgemeinen wollen wir daran festhalten, dafs unser Bestreben nicht so sehr sein soll, alles gleich möglichst grofs zu sehen, sondern alles möglichst schnell und doch deutlich genug heraus zu erkennen. Wir ziehen daher beim praktischen Arbeiten, soweit als irgend angängig, die schwächeren Vergröfserungen vor.

Der Anfänger pflegt beim Mikroskopieren gern das eine Auge zuzudrücken; davon ist abzuraten. Man arbeite, beide Augen geöffnet. Eine gute Vorübung dazu bildet die ungefähre

Bestimmung der Vergröfserung des mikroskopischen Bildes.

Wir legen statt des Präparates ein Glasmikrometer unter, von dem wir wissen, dafs 1 mm seiner Teilungsskala z. B. 20 Teilstriche umfafst. Unter das Mikroskop legen wir dann einen grofsen Bogen weifses Papier. Mit dem linken Auge sehen wir ins Okular, mit dem rechten auf das Papier. Mit einem Bleistift suchen wir nun die Entfernung zweier Teilstriche durch einen Strich genau aufzuzeichnen. Bei einiger Übung wird sich das rechte Auge schon daran gewöhnen, sich so zu stellen, dafs wir den Mafsstab und die Bleistiftzeichnung gleichzeitig an derselben Stelle erblicken. Wir messen nun die Länge des aufgezeichneten Striches und rechnen aus, wie oft $^1/_{20}$ mm darauf aufgetragen werden kann. Wir haben dann annähernd die Vergröfserung, bezogen auf die Entfernung zwischen dem Papier und dem Auge. Legen wir später das Papier in Höhe des Objekttisches, dann merken wir sogleich, dafs jetzt der Bleistiftstrich kleiner ausfällt. Wir müssen also uns immer das Papier in derselben Höhe auflegen, wenn wir die ver-

schiedenen Bilder in derselben Vergrößerung zeichnen wollen. Wer kein Glasmikrometer besitzt, kann einigermaßen genau folgendermaßen die Vergrößerung bestimmen: Auf den flachen Objektträger bringt man eine dünne Schicht Stärke und zieht durch diese mit der Bleistiftspitze einen Strich, der eine 1 mm breite Bahn fegt. Auf dem Blatt Papier sucht man die Breite dieser Bahn aufzuzeichnen: Ist dieselbe 50 mm breit gefunden worden, so ergiebt sich 1 : 50, also 50fache Vergrößerung. Gewöhnlich finden wir dem Mikroskop Tabellen beigegeben, die uns die Vergrößerungen der einzelnen Systemkombinationen angeben und gleichzeitig auch die Änderungen, welche die Vergrößerungen erleiden, wenn die Entfernung des Zeichenblattes geändert wird. Die Angaben beziehen sich gewöhnlich auf eine bestimmte Tubuslänge und 250 mm Bilddistanz.

Vor der Anwendung eines stärkeren Systems stellt man das Objekt erst mitten in das Gesichtsfeld der schwächeren Vergrößerung ein, andernfalls kann das Absuchen des Präparates sehr mühselig werden. Dabei muß man auch sehr vorsichtig zu Werke gehen und sorgfältig auf das Erscheinen von Schatten achten. Sind solche im Gesichtsfeld bemerkbar geworden, dann wird zunächst durch Auf-, dann eventuell durch Abwärtsschrauben das Bild gesucht. Die Fertigkeit, den Objektträger gleichmäßig ruhig verschieben zu können, ist sehr wesentlich für schnelles Arbeiten. Ruckweise Bewegungen des Objektträgers erschweren sehr das genaue Absuchen des Präparates. Kostspieligere Mikroskope haben für diese Zwecke besondere Einrichtung, durch die nicht bloß das vollständige Absuchen des Präparates, sondern auch das Wiederauffinden derselben Stelle ermöglicht wird. Bei Anwendung der Immersionssysteme vermeide man eine zu große Annäherung an den Rand des Deckgläschens, namentlich wenn das Präparat frisch angefertigt ist und die Flüssigkeit unter dem Deckgläschen hervorgequollen ist. Hier findet dann eine Vermischung mit dem Immersionstropfen statt, die namentlich dann störend wirkt, wenn wir z. B. Hefe im Präparat hatten. In den Immersionstropfen gelangt, erzeugen sie zu viel Schatten und machen daher ein klares Bild unmöglich. Bei ätzenden Flüssigkeiten ist eine Vermischung derselben mit dem Immersionstropfen erst recht zu vermeiden.

Wir haben bisher schon oft von der Immersion gesprochen, ohne den Nutzen derselben zu berühren. Denselben werden wir leicht begreifen, wenn wir uns daran erinnern, daß das Licht ungehindert seinen Weg geht und keine Ablenkungen erfährt, wenn die zu durchlaufenden Medien gleiche Lichtbrechung besitzen. So verhält es sich auch bei dem Ölimmersionssystem. Das Licht aus dem Präparat gelangt ohne Ablenkung fast in derselben Lichtstärke in das Objektiv und erzeugt hier eine größere Helligkeit, als wenn Luft oder Wasser an Stelle des Öles gewesen wäre.

Wir wollen nicht das Pleurosigmapräparat beiseite legen, ohne uns über den Bau dieses Organismus eine Vorstellung zu machen. Wir haben beobachtet, dafs beim Drehen der Mikrometerschraube uns zweimal dasselbe, durch seine feinen Streifensysteme ausgezeichnete Bild bei einem und demselben Pleurosigmaexemplar erschienen ist. Die Kieselalge hat also einen ebensolchen Panzer auf der Unterseite wie auf der Oberseite. Dann haben wir stellenweise lange, linealartige Splitter zerstreut im Präparat umher liegen sehen. Das sind die Seitenwände, die bei der Herstellung des Präparates von einzelnen Exemplaren abgesprungen sind. Der ganze Panzer besteht wie eine Schachtel aus zwei genau ineinander greifenden Hälften. Man unterscheidet zwischen Schalen- und Gürtelseite; die Vermehrung der Kieselalgen oder Diatomaceen geschieht durch Auseinanderklappen der alten und durch Bildung von zwei neuen in diese passende Schalenhälften. Auf weitere Eigentümlichkeiten dieser Organismen werden wir später noch zu sprechen kommen.

§ 5. Mikroskopische Beobachtung eines wachsenden Krystalls.

Wir verschaffen uns chlorsaures Kali, das bekannte Gurgelsalz. Wenn wir in einem Reagenzgläschen gröfsere Mengen desselben unter Erwärmen in Wasser auflösen, bekommen wir eine Flüssigkeit, die beim Erkalten mehr oder weniger schnell, zuerst an der Oberfläche, kleine Kryställchen ausscheidet. Die meisten derselben versinken und wachsen, ehe sie auf dem Boden anlangen, zu immer gröfseren rhombischen Täfelchen aus, die in allen Farben das Licht zurückwerfen.

Ebenso reizvoll wie die Beobachtung dieses Farbenspiels ist die des Wachstums der Kryställchen unter dem Mikroskop.

Wir bringen auf einen flachen Objektträger einen gröfseren Tropfen Wasser und schütten ein kleines Häufchen Krystalle hinein, verteilen diese möglichst in der Fläche und geben ein Deckgläschen darauf. Die seitlich hervorquellende Flüssigkeit saugen wir mit Filtrierpapier ab.

Nun kehren wir das ganze Präparat um und halten es über die Sporflamme eines Brenners oder über ein brennendes Streichholz. Das Präparat darf jedoch der Flamme nicht so nahe kommen, dafs sich das Deckglas mit Rufs beschlägt. Diese Erwärmung bringt das Auflösen der Krystalle zu stande, sofern nicht zu reichlich davon zum Wassertropfen gegeben waren. Nun bringt man das Präparat wieder in die gewöhnliche Lage und schiebt es auf den Objekttisch. Wir stellen auf den Rand des Deckgläschens ein und zwar auf die Flüssigkeitsschicht und warten ab, bis die ersten Krystalle ansetzen.

Ist dieser Augenblick gekommen, dann kommt bald Leben in das ganze Gesichtsfeld. Von allen Seiten mitunter sieht man die Krystalle heranwachsen, Linie auf Linie fügt sich mit mathematischer Regelmäfsig-

keit dem Rand des Krystalls an, wie bei einer Schraffierung, und dies mitunter so geschwind, dafs in wenigen Sekunden das Gesichtsfeld durchquert ist.

Ein Farbenspiel beobachten wir hier nicht, wie bei dem ersten Versuch, da wir hier nur durchfallendes Licht angewendet haben. Der ganze Anblick der Krystalle erinnert bald an die Eisblumen am winterlichen Fenster, bald an feine Federzeichnungen, bald an Skizzen von Festungswerken.

Diese Schönheiten können wir leicht wieder zerstören, indem wir das Präparat wie vorhin wieder erwärmen oder an den Rand des Deckgläschens einen Tropfen warmen Wassers bringen und dieses unter das Deckgläschen sich einziehen lassen. Nun schmilzt alles wieder weg, um später nach dem Erkalten und teilweisem Verdunsten des zugefügten Wassers wieder in neuer Pracht zu erstehen. Die Natur spottet hier unseres Vandalismus.

§ 6. Wachstum sogenannter „künstlicher Zellen“.

Wir zerdrücken einen kleinen Kupfervitriol-Krystall, geben eine Anzahl dabei erhaltener Splitter in einen „hohlen Objektträger“, der bereits mit einigen Tropfen einer Lösung von gelbem Blutlaugensalz angefüllt ist. Wir bemerken sogleich die Bildung einer braunen Blase um jeden Splitter und weiterhin ein Wachstum derselben, wobei ganze Beulen plötzlich nach aufsen sich vorstülpen. Dieser ganze Vorgang ähnelt sehr den Bewegungen, welche eine Amöbe ausführt. Innerhalb der braunen Membran erscheint die den blauen Kern umgebende Flüssigkeit schwach blau gefärbt; von der gelben Lösung dringt nichts hinein, aufser Wasser. Je konzentrierter die blaue Lösung, desto mehr zieht sie Wasser an; die Blase dehnt sich, und dabei kommen neue Kupfervitriolteile mit dem Blutlaugensalz wieder in Berührung. Die Folge davon ist die Bildung eines neuen Membranstückes. Die braune Substanz ist unlöslich sowohl in dem gelben Blutlaugensalz als auch in der Kupfervitriollösung; sie ist amorph und stellt eine neue Verbindung: Kupferferrocyanür dar.

Solcher Membranbildner kennen wir noch eine ganze Anzahl. Gelatine oder Leim, der lange Zeit (ca. 12 Stunden) gekocht worden ist, erstarrt nicht mehr, es ist dabei aus dem α-Leim β-Leim geworden.

Mit Tanninlösung zusammengebracht, bildet ein solcher Leimtropfen sofort an seiner Oberfläche eine Fällungsmembran von gerbsaurem Leim. Auch hier findet ein Wachstum der Blase statt, ähnlich wie bei einer lebenden Pflanzenzelle.

Wenn gelbes Blutlaugensalz und Eisenchlorid in Lösungen zusammentreffen, entsteht ebenfalls eine Membran von Berliner Blau.

Die infolge der erhöhten Wasseraufnahme innerhalb der Blase entstehende Spannung nennt man Turgor. Die Bewegung des Wassers von aufsen in die Blase hinein nennen wir Endosmose. Die sog. osmotischen Vorgänge — Endosmose und Exosmose — spielen in den tierischen und pflanzlichen Zellen eine bedeutende Rolle.

§ 7. Quellungserscheinungen bei Stärkekörnern. Jodstärke.

Wir hatten vorhin die Krystalle von chlorsaurem Kali nach ihrer Zerstörung immer wieder sich bilden sehen. Nun wollen wir Naturgebilde zerstören, die sich nicht wieder aufbauen lassen: Stärkekörner. Flacher Objektträger — Tropfen Wasser — Kartoffelstärke darin fein verteilt — Deckglas darüber — Präparat umkehren und über der Sparflamme die eine Ecke des Deckgläschens erhitzen, bis mit bloſsem Auge schon eine Veränderung bemerkbar — dann mikroskopieren! Wir wählen stärkere Vergröſserungen und achten zunächst auf die inneren Strukturverhältnisse der noch nicht gequollenen Stärkekörner. Dieselben zeigen zahlreiche Schichten, die einen gemeinsamen excentrisch gelegenen Mittelpunkt haben. Auch Risse und Sprünge kommen vor; auffällig ist uns, daſs die meisten Risse im Innern des Korns auftreten, ohne bis an den Rand zu kommen. Einzelne Körner, die durch äuſseren Druck zerquetscht sind, zeigen auch Sprünge, die von aufsen nach innen keilförmig verlaufen.

Die Körner der erhitzten Stelle erscheinen aufserordentlich verändert: ums 5—20fache aufgequollen, die Schichten bedeutend verbreitert, dabei verschoben und verbogen, aber nach wie vor von wechselnder Dichtigkeit. Der starke Glanz ist verschwunden. —

An der Grenzschicht der erhitzten Stellen sind alle Quellungsstadien nebeneinander vertreten. Möglichst helle Beleuchtung durch Hohlspiegel, weite Blendöffnung: In dem hellen Gesichtsfeld sind die gequollenen Körner kaum noch zu sehen. Bei ganz enger Blendöffnung erscheinen sie am schärfsten konturiert.

Die einzelnen Stärkemoleküle haben nicht die Fähigkeit, sich von selbst wieder so dicht aneinander zu lagern, wie es die Moleküle von dem chlorsauren Kali vermochten. Durch die Erhitzung ist die Struktur der Körner völlig zerstört worden. Chemisch hat sich die Stärke aber dabei nicht verändert.

Unvermindert haben die Stärkemoleküle die Fähigkeit, Jodmoleküle lebhaft an sich zu ziehen, behalten trotz der Quellung. Ein Tropfen Jod-Jodkaliumlösung an den Rand des Deckgläschens: Die gequollenen, verkleisterten Körner färben sich fast augenblicklich blau und auch die besonders stark gequollenen Körner sind ganz deutlich abgegrenzt, selbst bei grellster Beleuchtung.

Wie ist in der Pflanze das Stärkekorn zu stande gekommen, wenn seinen einzelnen Molekülen das Vermögen abgeht, sich dicht aneinander zu lagern?

Das Stärkekorn hat sich nicht vermöge eines eignen Bildungstriebes aufgebaut, es ist aufgebaut worden. Wie ein Haus entsteht, indem von Menschenhand Ziegel auf Ziegel gelegt und durch Mörtel verkittet wird, so entsteht das Stärkekorn durch die Kunstfertigkeit besonderer protoplasmatischer Gebilde innerhalb der Pflanzenzellen, die Leukoplasten heifsen. Keines Menschen Kunst vermag ein Stärkekorn aufzubauen! Die Leukoplasten der verschiedenen stärkereichen Pflanzen arbeiten aber nicht alle nach demselben Schema; es wird fast in jeder Pflanze nach einem besonderen Muster gearbeitet, wovon uns die Abbildungen auf Seite 32 einen deutlichen Beweis liefern.

Das Baumaterial erhalten die Leukoplasten aus den grünen Organen. Dort wird es von den Chloroplasten, den Trägern des Chlorophyllfarbstoffes, unter Mithilfe des Lichtes bei Gegenwart von Kohlensäure angefertigt. Die Stärkekörner in den Chloroplasten sind durchweg klein, einfache Körnchen (Assimilationsstärke), die an dem Ort ihrer Entstehung nicht verbleiben, sondern in flüssiger Form den Reservestoffbehältern zugeführt werden. Während die Chloroplasten nur im Licht arbeiten, sind die Leukoplasten davon unabhängig. Trotzdem ist ihre Thätigkeit durch die verschieden starke Zufuhr von Stärkemolekülen in Mitleidenschaft gezogen: bei starker Zufuhr legen sie die Moleküle dichter aneinander, bei schwacher verwenden sie zu viel Wassermoleküle zum Bau.

Den Vorgang der Quellung und Verkleisterung der Stärkekörner haben wir in unserem Präparat noch nicht beobachten können, weil derselbe schon beendet ist in dem Augenblick, wo wir das Präparat von der Flamme entfernt haben. Wir könnten allerdings bei Anwendung eines heizbaren Objekttisches diese Lücke noch ausfüllen. Bequemer ist jedoch die Quellung der Stärke auf kaltem Wege mit Hilfe von Natronlauge zu studieren. Wir benutzen das vorige Präparat und geben einen Tropfen verdünnter Natronlauge an eine noch nicht erhitzte Randstelle des Deckgläschens; dann beobachten wir das Vordringen der Natronlauge unter dem Mikroskop. An der fortschreitenden Grenzzone blähen sich die Körner auf, als ob Leben in ihnen steckte, und zeigen dann dasselbe Verhalten wie beim Erhitzen. Die von dem Jod blau oder blauschwarz gefärbten Körner quellen ebenso auf, aber verlieren dabei fast augenblicklich ihre Farbe.

Die Quellung hört auf, wenn alles Wasser verbraucht ist; sie kommt auch nur bei Anwesenheit von genügenden Wassermengen zu stande.

Daher darf man bei diesen Versuchen nie zu viel Stärkekörner in das Präparat bringen.

§ 8. Verschiedene Stärkesorten. Malzstärke.

Da Weizen-, Roggen-, Gersten-, Mais- und Reisstärke leicht zu beschaffen sind, wird es sich empfehlen, auch diese mikroskopisch zu untersuchen. Hier mögen einige kurze Angaben folgen. Die Weizenstärke hat mehr linsenförmige Gestalt und eine konzentrische Schichtung; nicht selten zeigt die Oberfläche eine netzartige Zeichnung. Roggen- und Gerstenstärkekörner sind ähnlich geformt. Maisstärke hat grofse, Reisstärke kleine, eckige Körner. Viele solcher kleinen Körner setzen sich zu einem gröfseren Korn zusammen. Auch Haferstärke besteht aus zusammengesetzten Körnern.

Besonders eingehend ist die Struktur und Bildung der Stärkekörner von Nägeli studiert worden.

In Abbildung 5 Seite 32 finden wir eine Zusammenstellung verschiedener Stärkesorten, die sämtlich in 150facher Vergrösserung nach Photographieen

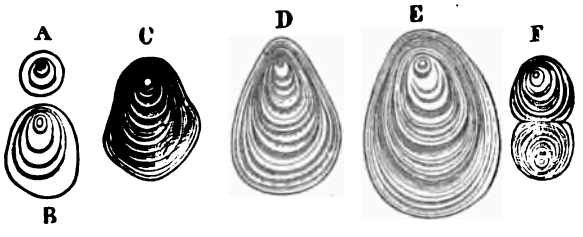


Abb. 6. Kartoffelstärke.
A junges, unentwickeltes Korn; B—E entwickelte Körner; F zusammengesetzes Korn.
Vergröfserung 300fach.

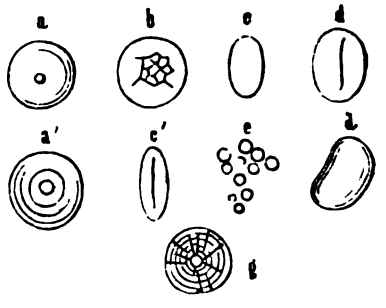


Abb. 7. Weizenstärke.
a—d grofse, e kleine Körner; a, b von der Fläche, c, c' von der Seite gesehene Körner; b Korn mit netzförmigen Eindrücken, von den kleinen Körnern herrührend; c', d' Körner mit spaltenförmigen, durch den Kern durchgehenden Rissen.
Vergröfserung 300fach.

vom Verf. gezeichnet worden sind. Eine besondere Erklärung dürfte überflüssig sein.

Es sei hier nur bezüglich der Euphorbiastärke erwähnt, dafs diese in den Milchsaftröhren vorkommt und durch die knochenförmigen Gestalten besonders von den übrigen Stärkesorten sich unterscheidet.

Präparierte, sogen. „lösliche Stärke", die man durch längere Behandlung mit verdünnter Säure erhält, zeigt zwar die Struktur noch, aber nicht mehr so starke Quellungserscheinungen. Der mit Jod sich blaufärbende Teil des Kornes ist die sogen. Granulose, neben ihr ist noch die, gleichsam das Gerüst für das Korn hergebende Stärkecellulose vorhanden; diese färbt sich nicht mit Jod.

Die Schichtung der Körner hängt mit dem ungleichen Wassergehalt zusammen; es wechselt eine wasserarme immer mit einer wasser-

reichen ab; die äufserste Schicht ist sehr fest und wasserarm. Der Mittelpunkt der Schichtung ist am wasserreichsten, daher beim Trocknen der Stärke im Innern zuerst die grossen Risse auftreten. Durch Agentien, wie Natronlauge, welche Stärkekörner zum Quellen bringen, kann die Schichtung immer mehr verwischt werden, da die stärkereichen Schichten dann ebenfalls viel Wasser aufnehmen. Durch Wasser entziehende Mittel, absoluten Alkohol, Glycerin, können andererseits die wasserreichen Schichten wasserarm gemacht und dadurch auch die Unterschiede in der Lichtbrechung zum Verschwinden gebracht werden. Sehr deutlich wird die Schichtung kenntlich durch Einwirkung von Chromsäurelösung.

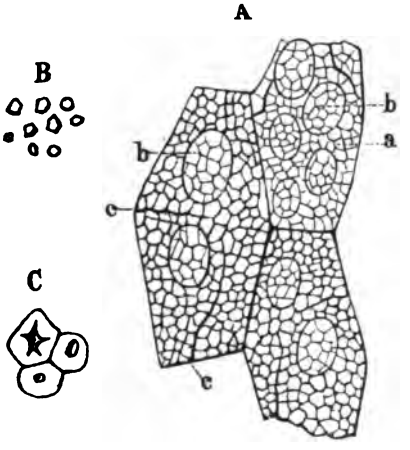


Abb. 8. A B 300fach, C 800fach vergrössert. A Zellen aus dem Reiskorn, a unecht zusammengesetzte Stärke, b echt zusammengesetztes Stärkekorn, c Risse, durch Eintrocknen entstanden. B einzelne Körner von a und b. C Dieselben stärker vergrößert.

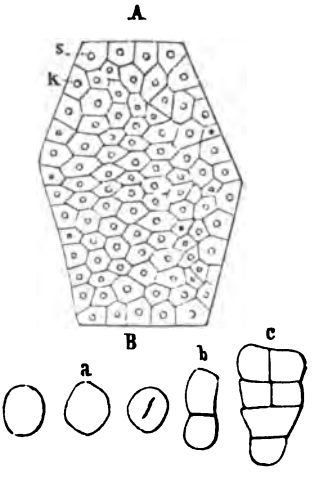


Abb. 9. Vergrösserung 300fach. A stärkeführende Zelle aus dem hornigen Teile des Maiskornes, s einzelnes Stärkekorn, k Kern. B a einfache, b und c zusammengesetzte Stärkekörner aus dem mehligen Teile des Maiskornes.

Wasserfreie Stärke mit wasserfreier Jodlösung zusammen gebracht, giebt keine Blaufärbung, sondern eine Gelb- bis Braunfärbung.

Untersuchen wir Stärkekörner aus Grünmalz, so finden wir zahlreiche Kanäle, die von aufsen nach der Mitte des Kornes verlaufen; das Korn sieht wie zerfressen aus. Auch durch Einwirkung des Speichels in der Wärme tritt ein solches Auflösen des Kornes ein, weil hier, ähnlich wie im Grünmalz, ein diastatisches Ferment wirksam ist. Ähnlich angegriffene Stärkekörner wie im Grünmalz treffen wir im Sauerteig an. Hier erscheinen uns die Schichtungen bei der im Durchschnitt etwas gröfseren Roggenstärke besonders deutlich; auch findet man hin und wieder Körner, die schon soweit aufgelöst sind, dafs man kaum noch die Umrisse erkennt. Die Wirkung der Stärke lösenden und ver-

zuckernden Enzyme nimmt an Intensität zu mit steigender Temperatur; sie wird bei einem einfachen Maischversuch besonders gut zu verfolgen sein.

Bei der Verzuckerung des Malzes im Laboratorium entnehmen wir von Zeit zu Zeit dem Maischbecher Proben zur mikroskopischen Untersuchnng. Durch Zugabe von Jodlösung zum erkalteten Präparat erfahren wir, ob noch unverzuckerte Stärke vorhanden. Hat die Maische 50—52° R. = 65° C. erreicht, dann ist nichts mehr von Stärkekörnern zu sehen. Ist der Verzuckerungsprozess beendet, so findet keine Färbung durch Jod mehr statt; die Gestalt der Stärkekörner ist scheinbar verschwunden. Jetzt fügen wir einen Tropfen konzentrierte Schwefelsäure zum Präparat. Zu unserem Erstaunen sehen wir plötzlich stellenweise wieder blaugefärbte Körner, obwohl gequollen, auftauchen. Es ist das Cellulosegerüst der Stärkekörner, welches sich noch erhalten hat, und welches mit Jod und konzentrierter Schwefelsäure die bekannte Cellulosereaktion giebt. Man hat bei dem Korn danach die Stärkecellulose und die Granulose unterschieden.

§ 9. Pflanzenleben im Wassertropfen.

Wir schöpfen aus irgend einem stehenden oder fliefsenden Wasser eine kleine Probe an einer Stelle, wo grüne Algen oder gröfsere grüne Wasserpflanzen, wie z. B. die Elodea canadensis oder Wasserpest vorkommen. Wir heben auch etwas Schlamm auf an Stellen, wo uns derselbe mit dunkelgrünen schleimigen Polstern besetzt scheint.

Wir lassen das Glas vorläufig im Zimmer in der Nähe des Fensters, aber geschützt vor der Sonne stehen.

Nach einiger Zeit schon sehen wir an den grünen Teilen der kleinen Wasserpflänzchen kleine Blasen auftreten, die bald haften bleiben, bald nach oben entweichen. Auch in dem zarten Fadengeflecht der Algen sammeln sich solche Luftblasen an und heben wohl gar die ganze Masse an die Oberfläche. Ein Teil der Schlammpolster entsendet auf dem Boden des Gefäfses zarte grüne Strahlen, die der Wandung sich anschmiegen und an ihr immer weiter kriechen. In diesem feinen Gespinst treten ebenfalls Gasblasen auf. Auch tierisches Leben wird sich bald bemerkbar machen, wenn die Schmutzteilchen zum Absitzen gekommen und das Wasser klar geworden ist. Kleine Fadenwürmer, kleine Krebstierchen schlängeln sich oder hüpfen munter von einer Stelle zur andern; einzelne kleine Schnecken saugen sich an dem Glase fest und säubern die Wandung von kleineren Tieren und Pflänzchen, die sich da angesetzt haben. Sie putzen uns das Fenster, durch das wir das Leben der kleinen Wasserwelt beobachten wollen.

Wir könnten mit zwei kleineren Proben von diesem Wasser den

berühmten Liebigschen Versuch nachmachen, indem wir sie auf zwei kleinere Gläser füllen und diese zukorken und versiegeln. Die eine Probe wird in einem dunklen Raum aufbewahrt, die andere im Zimmer. Letztere wird nach Jahr und Tag noch eine lebende Generation von Pflanzen wie von Tierchen enthalten, während in ersterer allmählich alles abstirbt, weil kein Sonnenlicht da ist, welches dem Mechanismus des Lebens täglich einen neuen Antrieb giebt. Nur bei Gegenwart von Licht vermag die Pflanze die Stoffwechselprodukte des tierischen Organismus wieder zu Nährstoffen aufzubauen und die für letzteren zur Atmung notwendige Sauerstoffmenge auszuscheiden.

Eine Variante dieses Liebigschen Versuches können wir noch auf folgende Weise ausführen. Wir bringen einige kleine Wassertropfen auf die Unterseite eines Deckgläschens, das mittelst Vaselin auf einem hohlen Objektträger festgekittet wird. Abgeschlossen von der Aufsenwelt, aufser von Licht und Wärmestrahlen, spielt sich hier das Leben auf kleinstem Raume ab. Wir können täglich das Präparat unter das Mikroskop bringen und den Kampf zwischen Tier und Pflanze verfolgen, der immer auf die Herstellung eines Gleichgewichtes zwischen beiden hinzielt, denn vollständige Vernichtung des einen Teils bringt auch dem anderen Verderben.

Für denjenigen, welcher im Besitz eines Mikroskopes sich befindet, kann es kaum eine anziehendere Beschäftigung in den Mufsestunden geben, als die Beobachtung eines solchen Mikrokosmos. Ganze Bände liefsen sich schreiben, wollte man die Mannigfaltigkeit der Erscheinungen erschöpfend schildern.

Hier sollen nur einige der häufigsten Wasserorganismen besprochen werden.

Vorerst suchen wir einiger jener feinen, wie grüne Seidenfäden aussehenden Algen, die aus den Schlammpolstern hervorgekrochen und an der Glaswandung sich emporgearbeitet haben, mittels eines Platindrahtes habhaft zu werden. Wir sind erstaunt, wie zierlich sich die einzelnen Fäden unter dem Mikroskop ausnehmen. Wir betrachten längere Zeit das Fadengewirr und finden, dafs sich die einzelnen Individuen wie Aale krümmen und fortbewegen; zum Teil sind sie lang ausgestreckt, zum Teil wie eine Peitschenschnur gebogen und zopfartig zusammengeflochten. Die Endstücke jedes Fadens pendeln zumeist wie ein Schlangenkopf hin und her. Wo mehrere Fäden aneinanderliegen, gleiten sie gewöhnlich in entgegengesetzten Richtungen aneinander entlang. Die Alge hat wegen ihrer beständig schwingenden, pendelnden Bewegung den Namen

Schwingfaden oder Oscillaria

erhalten. Es giebt verschiedene Arten davon, die sich durch die Dicke der Fäden und durch mehr oder weniger dichte Stellung der Querwände

unterscheiden; letztere sind in sehr regelmäfsigen Abständen angelegt. Das Wachtum des ganzen Fadens kommt durch die Gröfsenzunahme der einzelnen Glieder zu stande. Jedes Glied legt in der mittleren Zone eine neue Querwand an, und die beiden Hälften der Zellen wachsen, jede für sich, zur Gröfse der Mutterzelle heran. In a und b der Abb. 10 sehen wir die Stellen, wo die neuen Querwände sich bilden werden, bereits angedeutet. Der Faden kann in viele Stücke zerbrochen werden, und jedes derselben, selbst wenn es nur eine einzelne Zelle ist, kann sofort das Wachstum wieder aufnehmen. In älteren Fäden finden wir ganze

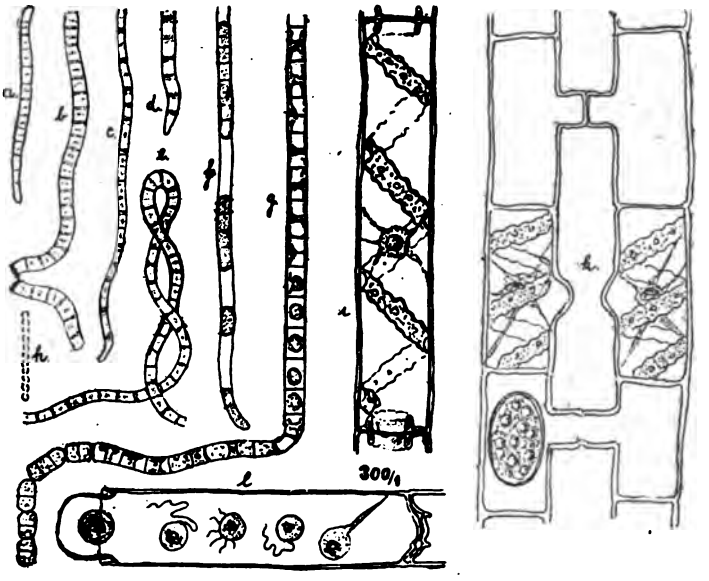


Abb. 10.

a—f Verschiedene Fadenstücke des blaugrünen Schwingfadens (Oscillaria). g reingrüne Fadenalge; das untere Ende in die einzelnen Glieder zerfallend. h perlschnurartig geformter Faden einer bläulich-grünen Alge, die wegen ihrer winzigen Gröfse schon an Bakterien (Streptokokken) erinnert. i, k und l die Schraubenalge Spirogyra; i Querwände mit ringwulstiger Faltenbildung (S. Weberi), k verschiedene Stadien der Kopulation zweier Fadenstücke, l abgestorbener Faden, Parasiten beherbergend.

Strecken derselben leer (f); das lebensfähige Material wird dann dargestellt durch wenige Zellreihen, die in der schlauchartigen Hülle verbleiben, bis ein Auflösen derselben eintritt. Was den Inhalt der einzelnen Zellen angeht, so erscheint derselbe bis auf kleine Körnchenreihen homogen und von einem bläulich-grünen Farbstoff durchtränkt, der ein Gemisch von Chlorophyll und Phycocyan ist. Der zweite Farbstoff ist indigoblau; beim Absterben der Zellen, resp. beim Erhitzen des Wassers auf ca. 60° C., diffundiert der blaue Farbstoff aus der Zelle und giebt dem Wasser einen bläulichen Schein. Die blaue Farbe mancher Seen ist darauf zurückzuführen.

Für die Oscillaria ist auch noch ihr Vorkommen an ungesäuberten Fensterscheiben feuchter Räume, sowie in der Blumentopferde bemerkenswert. In letzterer kann sie durch ihre massenhafte Entwicklung sogar den Luftzutritt zu den Wurzeln sehr verhindern.

Wenn wir die Wasserprobe lange genug stehen lassen, so kann es wohl vorkommen, dafs wir auch lebhaft bewegliche Fäden erhalten, die aber ungefärbt sind. Sie sind schmäler wie die Oscillaria und fallen auf durch stark lichtbrechende Körnchen im Innern der Zellen. Wir haben hier eine sogenannte

Beggiatoa,

eine Schwefelbakterie, vor uns. In Brauereien und Brennereien ist sie keine Seltenheit; wir finden sie fast immer in den Rinnsalen der Abwässer. Wie für die Oscillaria, so ist auch für sie das Vorkommen in heifsen Quellen charakteristisch; namentlich schwefelhaltige Quellen werden von ihnen bevorzugt.

Weil sie Schwefel in ihrem Innern ausscheiden, glaubte man bislang, sie erzeugten in den Abwässern das Schwefelwasserstoffgas, das den faulen Eiern den widerwärtigen Geruch erteilt. Dem ist aber nicht so, die Bakterie hilft im Gegenteil dieses Gas vertilgen, indem sie es oxydiert und dabei den Schwefel aufspeichert.

Diese Bakterien sowie der als

Leptomitus lacteus (siehe Abb. 11)

oder jetzt auch als Apodya lactea bezeichnete Wasserpilz sind besonders an der Bildung der grauweifsen, wolkigen oder fuchsschwanzähnlichen Massen beteiligt, welche in Abwässern die Steine oder Pflanzen und sonstige feste Gegenstände überziehen und den Fischen für gefährlich gelten, was aber wohl noch nicht erwiesen ist.

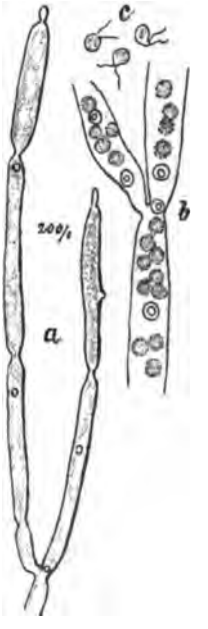


Abb. 11.
Leptomitus lacteus.
a Eingeschnürte Fäden mit Cellulinkörnchen.
b Bildung von Schwärmsporen.
c Schwärmsporen.

Diese Pflanze wurde 1853 zu einer wahren Kalamität für die Stadt Schweidnitz, indem sie in der Weistritz, in welche eine Spiritusfabrik die Schlempe durch den Mühlgraben ergofs, einen Raum von über 3000 qm bedeckte und die Röhren der Wasserkunst verstopfte, so dafs das Wasser in kurzer Zeit unter übelhaftem Geruche in Fäulnis überging und zum Waschen und Kochen untauglich wurde. Der etwa 300 m lange und 2—2,6 m breite Mühlgraben war von dieser Pflanze am Boden ganz und gar mit einer weifsen, lappigen, flottierenden Masse wie austapeziert, so dafs es aussah, als seien Schafflieſse am Boden befestigt.

Waren uns an der Beggiatoa die Schwefelkörnchen im Innern der Fäden aufgefallen — der Schwefel ist hier nicht gelb, sondern krystallhell ausgeschieden —, so wird bei Leptomitus unsere Aufmerksamkeit auf gröfsere Kugeln gelenkt, die zumeist an den eingeschnürten Stellen des Schlauches sitzen und hier als eine Art Kugelventil funktionieren. Es sind sogenannte Cellulinkörner, die in chemischer Beziehung der Pilzcellulose sehr nahe stehen.

Nicht nur Abwässer haben solche schleimige Vegetationen aufzuweisen; auch im Brunnenwasser, in Leitungsrohren, Wasserreservoiren, ja sogar an den feuchten Wandungen der Kellereien kommen solche zeitweise massenhaft zum Vorschein. Hier sind allerdings andere Arten beteiligt.

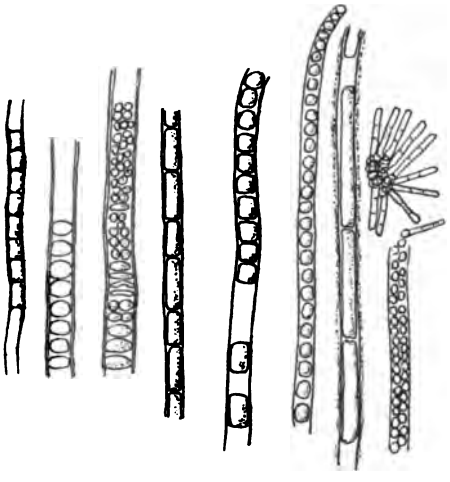


Abb. 12. Crenothrix Kühninia.
In verschiedenen Stadien der Aufteilung des Fadens zu Sporen. Auskeimung der Sporen.

Besonders gefürchtet für grössere Wasserwerke und Leitungen ist die sogenannte Brunnenpest, eine als

Crenothrix Kühninia

(siehe Abb. 12)

(Quellhaar) bezeichnete Bakterie. Sie hat seiner Zeit in Berlin öfter die Wasserleitungen verstopft und dadurch grofse Kalamitäten verursacht. Wir finden diese Bakterie fast in jedem Wasser, wenn wir es längere Zeit stehen lassen; sie bildet hier gewöhnlich feine Flocken auf dem Boden, die bei mikroskopischer Betrachtung aus lauter zarten Fäden bestehend sich erweisen. In ihnen wird stellenweise eine reichliche Gliederung des Inhalts in oblonge bis kleinkugelige Sporen angetroffen. Beim Verquellen der Fadenhülle gelangen letztere in Form schleimiger Ballen in Freiheit und keimen wieder zu neuen Fäden aus.

Von anderen Fadenbakterien ist noch die

Cladothrix dichotoma

(Asthaar) gewöhnlich zugegen; sie unterscheidet sich von der vorigen durch die Verzweigungen und durch das Fehlen von Sporenmassen im Innern des Fadens.

Die Schleimmassen auf der Oberfläche von lange gestandenem Wasser oder an den Wänden, besonders von Felsenkellern, oder an tropfenden Wasserhähnen bestehen gewöhnlich aus kleineren Bakterien, zumeist Stäbchenformen, denen allen eine starke Verquellung der Zellmembran eigentümlich ist. Durch diese Schleimschichten erscheinen

unter dem Mikroskop die eigentlichen Zellen weit voneinander getrennt. Die meisten dieser Organismen sind für Würze oder Bier ungefährlich, können jedoch oft indirekt schädigend wirken, indem sie beim Absterben scharfe, unangenehm riechende Stoffe produzieren, welche die Kellerluft verpesten und sich auch auf das Bier übertragen.

Wir wenden jetzt unsere Aufmerksamkeit einigen reingrünen Algen unserer Wasserprobe zu. Sie sind in der Natur zahlreicher vertreten als die blaugrünen. Aus der Fülle der verschiedenen Arten greifen wir zunächst eine Fadenalge heraus, welche etwas an die Oscillaria erinnert, weil sie unverzweigt und durch zahlreiche Querwände wie ein Mafsstab geteilt ist; sie ist aber völlig bewegungslos und ihr Zellinneres läfst uns deutliche Differenzierungen erkennen. Da ist ein Teil mit wässriger Flüssigkeit ausgefüllt, ein andrer Teil stellt eine schleimige Masse dar, und endlich sehen wir grün gefärbte Partien. Eine ganze Reihe von benachbarten Zellen zeigt so ziemlich dieselbe Anordnung dieser Gebilde; auch dafür, dafs der Faden leicht in Teilstücke zerfallen kann, finden wir Beläge (siehe den unteren Teil von g in Abb. 10); die Zellen sind hier stark angeschwollen und sehr inhaltreich und stellen Dauerkeime, Brutzellen dar.

Eine durch gröfsere Fadendicke und durch zierlichere Anordnung des grünen Anteils der Zelle ausgezeichnete Alge ist die

Spirogyra oder Schraubenalge.

Das Chlorophyll durchdränkt einen spiralig der Innenwand anliegenden Streifen (Abb. 10, i). In der Mitte der Zelle, an dünnen Plasmafäden aufgehängt, sieht man den Zellkern. Es giebt Arten mit nur einem und solche mit mehreren Chlorophyllbändern innerhalb derselben Zelle. Die Fig. i zeigt uns ein Beispiel der ersteren Art. Hier fällt uns noch auf, dafs die Trennungswand zwischen zwei benachbarten Zellen aus zwei Schichten besteht, von denen eine jede einen ringförmigen Wulst bildet. Bei der Trennung zweier Zellen stülpen sich diese Schichten hervor und dabei werden auch die Wülste geglättet (l).

Während die Alge in ihrer Wachstumsperiode unverzweigt bleibt, bildet sie später seitliche Zellenauswüchse, und zwar beeinflussen sich zwei benachbarte Fäden gegenseitig derart, dafs jeder derselben an entsprechender Stelle eine Ausstülpung bildet (k). Diese wachsen direkt aufeinander zu und saugen sich gleichsam fest; die trennende Zellhaut wird aufgelöst, und nun beginnt der Inhalt der Zelle des einen Fadens in die des anderen überzutreten. Die Inhalte verschmelzen und bilden eine Kugel, die sich bald mit einer derben Haut umgiebt. Wir haben hier den Fall einer geschlechtlichen Befruchtung, eine sogenannte Kopulation vor uns. Die erzeugte Spore heifst Zygospore. In Figur k sehen wir das eine Zellenpaar im Begriff, die Kopulationsäste zu bilden; in dem oberen Zellenpaar sind die trennenden Zellhäute noch vorhanden,

in dem unteren bereits aufgelöst. In der links unten gelegenen Zelle liegt die fertige Zygospore. Sie wird später durch Auflösung der Fadenhülle frei. Ausgezeichnet durch ihre grofse Widerstandsfähigkeit gegen äufsere Einflüsse, vermag sie im Schlamm wie im trocknen Erdreich zu überwintern, um im Frühjahr im Wasser wieder zu einer Schraubenalge auszuwachsen.

Dafs solche mikroskopisch kleinen Pflänzchen auch ihre Feinde haben beweist uns Fig. 1. Hier sehen wir die Zelle inhaltsleer; weder ein Chlorophyllband noch Plasma ist mehr vorhanden. Nur kugelförmige Gebilde mit braunen Flecken im Innern und peitschenförmig sich bewegenden dünnen Anhängseln sind zu sehen. Es sind dies parasitische Flagellaten, welche die Zellsubstanz aufgezehrt haben. Die braunen Reste sind Überbleibsel vom Chlorophyllkörper.

Wir verweilen noch etwas bei dieser Alge. Wir geben zu einem frischen Fadenstück einen Tropfen Jodlösung und bemerken, dafs im Verlauf des grünen Bandes einzelne Punkte sich schmutzig-blau färben. Dies sind kleine Stärkekörnchen. Wir bringen das Wasserglas eine Zeit lang ins Dunkle und wiederholen an einem neuen Präparat die Jodprobe. Die Blaufärbung bleibt aus. Im Dunkeln hat die Pflanze die Stärke, die sie im Licht produziert hatte, wieder aufgezehrt, veratmet. Hin und wieder treffen wir in der langen Reihe von Zellen die eine oder andere an, deren schleimiger Inhalt zusammengeschrumpft ist und wie ein Sack inmitten der Zelle liegt; die grünen Streifen haben an dieser Schrumpfung mit teilgenommen und dabei ihr frisches Aussehen verloren. Die betreffenden Zellen sind abgestorben. Die Todesursache ist uns zumeist unbekannt.

Während die Spirogyrafäden sich weich und schlüpfrig anfühlen, lernen wir in der

Cladophora

(Astträger), die wir an Balken oder Pfählen in unseren Wässern häufig antreffen, eine rauh, hart sich anfühlende Algenart kennen. Die Fäden haben beinah die Dicke eines Menschenhaares und sind im Gegensatz zu Spirogyra verzweigt. Die Oberfläche des breiten Fadens bietet für andere Organismen einen günstigen Boden zur Ansiedelung; die einen suchen sich lediglich darauf festzuwurzeln, die anderen suchen sich von den ausgeschiedenen Stoffwechselprodukten der Alge zu ernähren.

Wir sehen auf dem Fadenstück h in Abb. 13 eine kleine Algenform (i), welche den Faden zu umspinnen sucht.

Dann sehen wir bei k Bakterien zu keulenförmigen Häufchen zusammengedrängt, mit dem spitzen Ende aufsitzend; dann noch vereinzelte, aus nur 2 Zellen bestehende Individuen (l) einer kleinen, grünen Algenart. Auch Kieselalgen und Infusorientierchen siedeln sich häufig auf den Fäden an. Der Inhalt einer langen Fadenzelle ist nicht ohne

weiteres deutlich erkennbar, da die vielen grünen Chlorophyllplättchen der inneren Wandung dicht anliegen. Solche Fadenalgen besitzen mit die gröfsten Zellen, denen wir im Pflanzenreich überhaupt begegnen. Unter den meeresbewohnenden Schlauchalgen oder Siphoneen kommen sogar fingerlange und ebenso dicke Zellen vor, so bei Caulerpa. Hier sind die Zellwände sehr dick angelegt und gegen das Eindrücken noch durch Cellulosestäbe, die quer durch die Zelle gehen, versteift. Eine derartige grofse Zelle ist aber bei Verletzungen viel zu sehr gefährdet, als dafs sie unter wechselnden Verhältnissen mit einem vielzelligen Organismus von gleichen Dimensionen konkurrieren könnte. Bei den Schimmelpilzen werden wir in der Mucorgruppe Pflanzen kennen lernen,

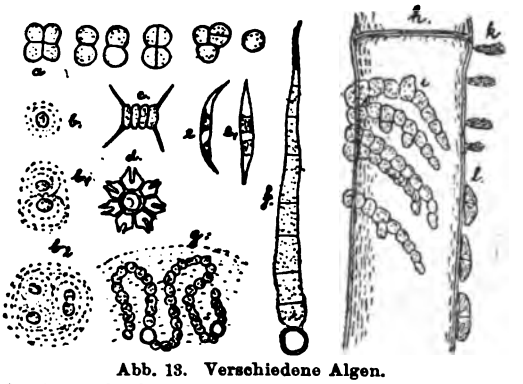


Abb. 13. Verschiedene Algen.
a Pleurococcus vulgaris (an feuchten Bretterzäunen häufig und diese grün färbend). b blaugrüne Gloeocapsa mit geschichteten Schleimhäuten. c Scenedesmus quadricaudata (4 Zellen zu einem Band Bündel vereint; die vier Ecken mit hakenförmigen Fortsätzen). d Pediastrum, Zellensternchen (8 Zellen sind zu einer Kolonie, einem „Coenobium" zusammengetreten). e spindelförmige Alge. f peitschenförmige Alge Rivularia. g rosenkranzförmige Alge Nostoc. h Fadenstück einer Cladophora (Astträger) mit Bakterienhäufchen (k) und kleinzelligen Algenformen (i und l) besetzt.

die bei reicher Verzweigung doch querwandlos bleiben und mithin auch einzellige Organismen darstellen.

In Wasserproben, namentlich im Frühjahr, sieht man oft Unmengen kleiner, grüner Körperchen, die Geifseln tragen und sich aufserordentlich schnell im Gesichtsfeld tummeln. Der Laie vermutet in ihnen zuerst immer Tiere. Es sind in Wirklichkeit aber pflanzliche Gebilde. Wir lernen in der

Ulothrix zonata

(a—a_9 in Abb. 14) eine Fadenalge kennen, welche derartige Schwärmzellen zeitweise in grofser Zahl und in verschiedener Gröfse bildet; auch bei der Cladophora ist das nämliche der Fall und ist bei ihr auch zum erstenmal die Bildung von Schwärmsporen beobachtet worden. Bei der Ulothrix teilt sich der grüne Zellinhalt in mehrere Portionen und tritt durch eine Öffnung der Wandung hindurch ins Freie (a_1—a_3);

die einzelnen Ballen werden zu Schwärmern. Sie nehmen eine birnförmige Gestalt an (a_4) und bilden an den spitzen Enden 4 lange Geifseln oder Cilien aus. Später saugt sich ein solcher Schwärmer, der auch durch einen roten Pigment- oder Augenfleck ausgezeichnet ist, mit dem spitzen Ende fest unter Abstofsung der Cilien, umgiebt sich mit einer Haut und wächst zu einem neuen Faden aus (a_5). Unter Umständen entstehen statt einzelner grofser eine Menge kleiner Schwärmer mit je zwei Wimpern (a_7). Diese Schwärmer paaren sich, indem sie sich seitlich zusammenlegen und miteinander verschmelzen. Die daraus entstandene kugelförmige Zelle (Zygote) umgiebt sich mit einer Haut, wächst langsam heran (a_8) und bildet ihren Inhalt zu gröfseren Schwärm-

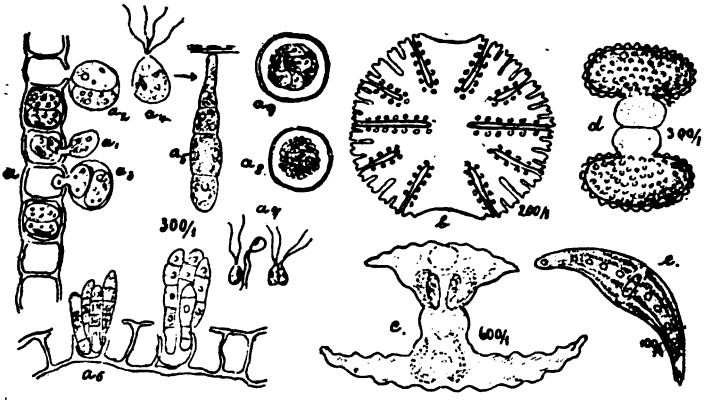


Abb. 14.

a—a_9 Ulothrix zonata *Kts.* (Kraushaar) in verschiedenen Entwicklungsstadien (nach Dodel). b, c, d, e Desmidiaceen (Bandalgen); b Micrasterias papillifera, warzige Sternchenalge, c aus zwei ungleichen Hälften bestehende Bandalge, d Cosmarium margaritiferum, die beiden Zellenhälften an der Trennungsstelle auswachsend, e Closterium moniliferum (gekrümmt, spindelförmig). b, d, e nach Lürssen.

zellen aus (a_9), die sich wie die ersterwähnten verhalten. Sind die kleinen Schwärmer aus der Zelle nicht ausgeschlüpft, dann können sie auch ohne Paarung gleich zu kleinen Fäden (a_6) auswachsen. Die Ulothrix (Kraushaar) zonata lebt in Bächen, Kanälen u. s. w. in Gestalt unverzweigter, infolge tonnenförmiger Anschwellung der einzelnen Zellen rosenkranzähnlicher, kraus durcheinandergewundener Fäden. In den entleerten Fadenstücken sehen wir in der Zellwand die Löcher, die beim Austritt der Schwärmer entstanden sind.

Die Spirogyra, Oscillaria, Ulothrix und Cladophora gehören zu den gröfseren mikroskopischen Objekten, die unsere Wasserprobe uns darbietet, die auch schon mit dem bloßen Auge wahrnehmbar sind.

Wir wollen nun einer Gruppe von Algen uns zuwenden, die das bloße Auge nicht ohne weiteres entdeckt. Hier sind es vor allem die

Kieselalgen,

welche unter dem Mikroskop sich am auffälligsten machen. Die Kunst des Zeichners versagt bei der Aufgabe, die Feinheiten des Baues der Kieselpanzer naturgetreu wiederzugeben. Als wenn die Natur mit den feinsten Zirkeln und Linealen gearbeitet hätte, so erscheinen uns die Gebilde in mathematischer Regelmäfsigkeit. Doch ein Blick ins Mikroskop belehrt uns darüber besser als Worte. Die Abbildungen in nachstehender Abb. 15 können nur in einem ganz schwachen Mafse Anspruch machen, naturgetreue Kopien zu sein; sie sollen uns jedoch von der Fülle der

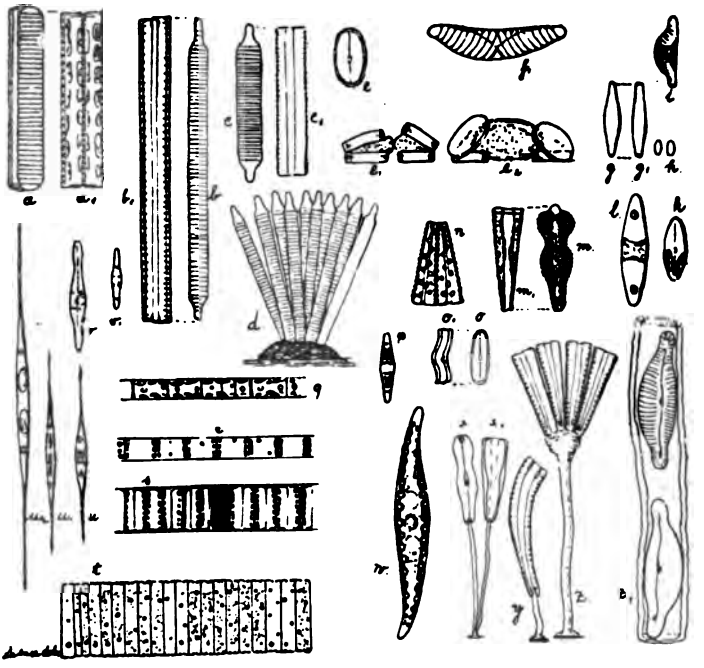


Abb. 15. Verschiedene Kieselalgen aus dem Müggelsee und dem Berlin-Spandauer Schiffahrtskanal.

e Cocconeis pediculus (weil sie wie Schildläuse auf anderen Algenfäden sitzen). e_1 und e_2 dieselbe Alge bei der Kopulation; die oberen Deckel werden emporgehoben, und die Plasmamassen zweier benachbarter Individuen verschmelzen zu einer Kugel (Auxospore), die später sich wieder zwei Schalen ausbildet. d Gruppe von linealförmigen Kieselalgen, die mit den unteren Enden in einem Schleimkuchen stecken. q, r, s, t bandförmige Kolonien, von der Gürtelseite gesehen. x, y, z gestielte Kieselalgen (Gomphonema-Arten). z_1 Kieselalgen, in Fäden liegend (Encyonema).

Formen, die in unseren Wässern leben, eine Vorstellung geben. Von der schachtelartigen Zusammensetzung der Schalen haben wir schon gesprochen. In a_1 der Abb. 15 sehen wir in einer Ansicht der Gürtelseite, dafs die Schalenhälften bereits sich auseinandergeschoben und dafs in der Mitte bereits zwei neue Schalen sich gebildet haben. Am besten ersieht man jedoch aus e bis e_2 die Ähnlichkeit mit einer Dose oder Schachtel. Bei den beiderseits in haarfeine Spitzen auslaufenden Formen (u bis u_2) wird es uns schon schwerer, an eine solche Bauart

zu glauben, und doch ist dem so. Bei den bandartigen Formen q bis t müssen wir uns vorstellen, dafs wir auf die Gürtelseiten sehen.

Denken wir uns eine grofse Anzahl Glasschälchen nebeneinander zu einer Rolle zusammengehäuft, so zwar, dafs immer zwei kleinere Schälchen von zwei gröfseren eingeschlossen werden, dann wird uns der Aufbau einer solchen bandförmigen Kieselalge verständlich werden.

Bei einzelnen Arten klappt das eine Ende der Schalenhälften etwas mehr auseinander als das andere; wir bekommen in der Gürtelansicht dann keil- bis fächerförmige Figuren wie bei n, m_1, x_1, z. Einzelne Arten besitzen einen Stiel, dessen unteres Ende sich auf der Unterlage festklebt (x, y, z); andere Arten kapseln sich in lange Schläuche ein, die aus einer ähnlichen schleimigen Masse wie die Stiele bestehen (z_1).

Was uns bei vielen Arten noch auffällt, ist die Bewegungsfähigkeit; wie ein Schiffchen gehen sie vorwärts oder rückwärts, manchmal einen bestimmten Kurs längere Zeit genau einhaltend, manchmal aber jeden Augenblick in einer anderen Richtung steuernd. Über die Ursachen dieser Bewegung ist neuerdings einige Klarheit geschaffen. Es hat sich nachweisen lassen, dafs die beweglichen Kieselalgen feine Plasmafäden aus den Schalen hervortreten lassen, welche die Bewegung herbeiführen.

Die feineren Einzelheiten des Schalenbaues werden gewöhnlich erst an geglühten Algen studiert. Die Kieselsäure wird beim Glühen nicht zerstört, sondern nur die organischen Beimengungen.

Die Unzerstörbarkeit des Schalenmaterials macht es auch erklärlich, dafs im Laufe von Jahrtausenden und Jahrmillionen die Schalen abgestorbener Kieselalgen in unseren Meeren zu ansehnlichen Schichten sich angehäuft haben. Bei Trockenlegung des Meeresbodens werden sie dann zu festen Erdschichten umgewandelt.

Die Kieselalgen kommen auch in feuchtem Erdboden fort, und die erdfressenden Menschen nähren sich in Wirklichkeit vorwiegend von den Bestandteilen jener Kieselalgen.

Für zarte Hände kann das Arbeiten mit Schlamm unter Umständen dadurch gefährlich werden, dafs durch die Wunden, welche die spitzen Kieselalgen der Haut beibringen, Krankheitskeime in das Blut gelangen können.

In Wasserreserven, die offen sind und Licht haben, bilden die Kieselalgen mitunter mehr oder weniger stark braune Wandbeläge. Die braune Farbe rührt von einem besonderen Farbstoff her, der neben dem Chlorophyll in den Zellen vorkommt. Beim Absterben der Zellen tritt der braune Farbstoff zuerst nach aufsen und der grüne Farbstoff tritt dann zu Tage.

Die Kieselgur, die sowohl zum Umkleiden von Dampfrohren als auch zur Fabrikation des festen Dynamits Verwendung findet, besteht fast ausschliefslich aus den Schalen dieser Pflänzchen.

Weniger häufig als die Kieselalgen ist eine Gruppe von Algen, die man

Desmidiaceen oder Bandalgen

nennt, im Wasser vertreten. Einzelne Arten dieser Familie kommen aber immer nur vereinzelt, nicht in Verbänden vor. Besonders die Wässer aus Torfmooren sind reich an diesen Organismen. In b—e der Abb. 14 sehen wir einige Vertreter einzeln lebender Arten. Im Gegensatz zu den meist braun gefärbten Kieselalgen finden wir hier die reingrüne Farbe wieder vor. Die Chlorophyllkörper haben gewöhnlich eine strahlige Anordnung. Die Oberfläche der Zellen ist glatt oder warzig; die Zelle fast immer symmetrisch gebaut. Bei der vegetativen Vermehrung brechen die Hälften auseinander, und an den Trennungsflächen keimt eine neue Hälfte hervor, die der älteren an Gröfse und Aussehen immer ähnlicher wird (d). Auch eine Kopulation kann gelegentlich stattfinden. Die neuen Auswüchse der Zellenhälften verschmelzen mit denen einer anderen Zelle, und es bildet sich eine Spore, eine sogenannte Zygote, die ihre Haut stark verdickt und stachlige Fortsätze ringsherum aussendet.

Das Kapitel über die Algen wollen wir mit der Betrachtung einiger durch ihre Wachstumsweise besonders charakterisierter Formen beschliessen. Wir knüpfen an die Abbildung 13 an. In der obersten Reihe sehen wir bei a einen Pleurococcus vulgaris, eine wie durch Rippen eingeschnürte kugelförmige Alge. Die Entwicklung aus der Kugel zum 4zelligen Paket geht in ähnlicher Weise vor sich, wie bei der Biersarcina, die wir später noch kennen lernen werden. Die Kugel streckt sich in die Länge, teilt sich durch eine Querwand an der schmalsten Stelle, dann bildet sich eine Querwand in der Längsrichtung; jede der vier Zellen rundet sich mehr oder weniger stark zur Kugel ab und kann später aus dem Verband heraustreten. Ähnliche Vorgänge spielen sich ab bei der als Gloeocapsa (b—b_2) bezeichneten Alge; nur tritt hier sogleich eine Trennung der beiden Hälften der Kugel ein infolge einer intensiven Quellung der Zellhaut. Je öfter der Teilungsvorgang sich wiederholt, um so mehr Quellungsschichten treten auf, und zwar wird das neue System immer von einem älteren umschlossen. Auch die rosenkranzähnliche Form (g) mit den beiden leeren Zellen (sogenannte Grenzzellen oder Heterocysten) sehen wir in einer Schleimmasse eingebettet liegen, eine Schichtung fehlt aber hier. Die Alge gehört zur Gattung Nostoc. Sie ist zumeist auf feuchter Erde anzutreffen und bildet da zitternde, gallertige Massen, die von Landleuten oft als vom Himmel gefallene Sternschnuppen aufgefafst wurden.

Die peitschenförmige Alge (f) mit der einen grofsen Grenzzelle gehört der Gattung Rivularia an, deren Arten ebenfalls auf feuchter

Erde gallertige Massen bilden; sie kommen aber auch im Wasser an Sumpfpflanzen sitzend vor.

Fig. d stellt ein Pediastrum dar, c eine Scenedesmusart. Für beide Gattungen gilt, dafs die Anordnung zu solch regelmäfsigen Gebilden bereits in der Mutterzelle eingeleitet wird. Durch einen Rifs der Mutterzellmembran tritt dann die junge Kolonie aus. Die sichelförmige resp. spindelförmige Alge e—e_1 kommt zu gewissen Zeiten so massenhaft im Wasser vor, dafs dasselbe eine grün gefärbte Emulsion darstellt.

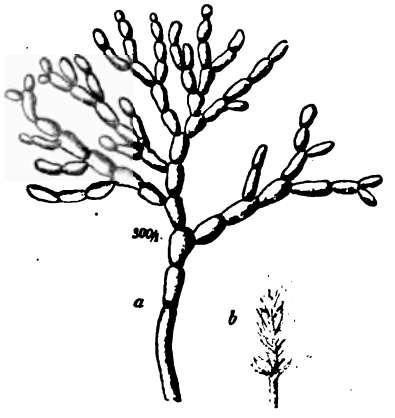


Abb. 16. Batrachospermum moniliforme. a Seitenast an die Sprossbäumchen der Hefe erinnernd. b Habitusbild der Pflanze.

Ein etwas höher organisiertes, zu den Florideen oder Rottangen gehöriges Pflänzchen, das sich in Gebirgswässern häufiger findet, ist die nebenstehend abgebildete sogenannte Froschlaichalge oder Tausendast; sie interessiert uns hier wegen der reichlich gegliederten und nach Art mancher Hefen wachsenden Sprofsverbände.

Wie der Name schon sagt, sind dieselben wie Froschlaich schlüpfrig anzufühlen und stark verschleimt.

Von höheren Wasserpflanzen wollen wir die Elodea canadensis oder die Wasserpest etwas näher betrachten. Sie ist eine der gefürchtetsten Pflanzen, weil sie sich so schnell und so massenhaft vermehrt, dafs sie ganze Kanäle verstopft und für die Schiffahrt unwegbar macht. Von Kanada ist sie nach Irland vor Jahrzehnten verschleppt worden, von da wurde sie nach dem Berliner botanischen Garten in einzelnen Exemplaren verpflanzt, und von hier aus hat sie sich über ganz Deutschland verbreitet. Wir legen eines der zarten, jungen Blättchen unter das Mikroskop, sehen uns die stachligen Umrisse des Rlattes an, dann die Zellen der Blattspreite und der Mittelrippe und beobachten längere Zeit den Inhalt der Zellen. Wir bemerken zu unserem gröfsten Erstaunen, dafs hier in den meisten Zellen der Inhalt eine lebhafte Bewegung zeigt. Die grünen Chlorophyllkörner, getragen von dem der Wandung anliegenden Plasma, umkreisen mit diesem in ziemlich flotter Bewegung den Saftraum der Zelle. Wir bemerken ferner noch,

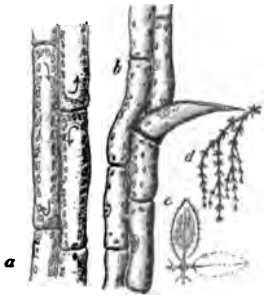


Abb. 17. Elodea canadensis. a Zellen aus der Mittelrippe. Die Pfeile deuten die Richtung der Bewegung an, welche das wandständige Plasma mit den Chlorophyllkörperchen ausführt. b Zellen vom Blattrand mit deutlichen Zellkernen. c ein Blattwirtel. d Habitusbild der Pflanze.

wie die einzelnen Zellen des Blattes stellenweise durch Lufträume getrennt sind; je mehr der Spitze genähert, um so dichter schliefsen die Zellen aneinander, um so mehr sind sie auch an Form und Gröfse untereinander übereinstimmend. Wir begreifen aus dem Bilde leicht, wie der Ort, an welchem die einzelne Zelle entsteht, entscheidend wird für die Funktionen, die sie verrichten soll. Besonders lehrreich ist es, die Ausbildung der Randzellen zu verfolgen. In ihnen werden wir auch regelmäfsig einen Zellkern deutlich zu sehen bekommen.

§ 10. Tierische Bewohner des Wassertropfens.

Bei der mikroskopischen Durchmusterung unserer Wassertropfen sind uns öfter auch tierische Lebewesen zu Gesicht gekommen. Je länger wir die Wasserprobe stehen liefsen, desto zahlreicher fanden sich diese Organismen vor. Wir wollen auch ihnen einige Aufmerksamkeit widmen, zumal sie auch in Gärungsbetrieben vielfach anzutreffen sind, so an feuchten Wandungen, im Quellstock, in den kleinen Pfützen der Gär- und Lagerkeller, vornehmlich aber in den Abwässern; im Laboratorium pflegen sie sich einzustellen in Wasserbecken, in den eingesandten Wasserproben, in den Keimapparaten, auf feuchten Gipsblöcken u. s. w.

Wir beginnen mit denjenigen Organismen, welche auf der niedrigsten Organisationsstufe stehen, mit den

Protozoën oder Urtierchen.

Obwohl sie dem Namen nach dem Tierreich angehören, nehmen sie zum Teil auch die Botaniker für sich in Anspruch.

Da sehen wir unter dem Deckgläschen ein winziges Gebilde von der Form eines Sackes, das sich wie ein flüssiger Brei weiter bewegt. An der einen Stelle quillt die Masse heraus, an der entgegengesetzten zieht sich dementsprechend der Sack zusammen. Wo ein kleines Körnchen im Wege liegt, wird es umflossen und aufgenommen. Hier liegt es dann wie die Rosine im Teig, nur mit dem Unterschied, dafs die teigige Masse hier selbst das Aufgenommene aussaugt und verzehrt, bis auf die unverdaulichen Bestandteile.

Auf feuchten Gipsblöcken können wir öfter sogar Hefezellen die Opfer solcher gefräfsiger Schleimtröpfchen werden sehen. Nachstehende Abb. 18 stellt solche „Amöben“ beim Hefefrafs dar.

Amöben hat man sie genannt, weil sie beständig ihre Form verändern. Man mufs unterscheiden zwischen tierischen Amöben und den Schleimpilz-Amöben. Die ersteren sind selbständige Formen, die nicht wie die Schleimpilz-Amöben Plasmodien und Fruchtkörper zu bilden vermögen.

Der Vorgang des Ergreifens und des Einverleibens der Hefezellen ist folgender: Die mit dem Amöbenkörper in Berührung kommende Hefezelle wird zunächst an der Berührungsstelle angesaugt, später wälzt sich

die ganze Plasmamasse des ersteren heran und umfliefst sie. Nachdem sie völlig eingebettet worden ist, wird sie zumeist von einer Vakuole umschlossen. Hier verbleibt sie so lange, als die Amöbe noch Nahrung aus ihr zu ziehen vermag. Ist dies nicht mehr der Fall, dann öffnet sich die Vakuole entweder direkt nach aufsen, oder es bildet sich erst

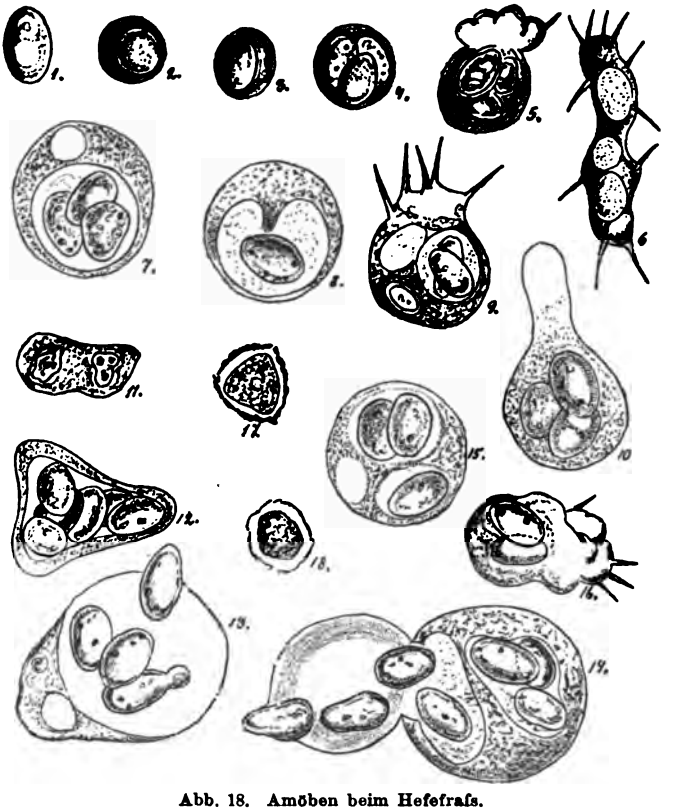


Abb. 18. Amöben beim Hefefrafs.

1 und 2 stellen eine Hefenzelle und Amöbenzelle dar. Die Amöbe hat sich kugelig zusammengeballt und zeigt ein feinkörniges Plasma; in demselben ist eine grofse Vakuole scharf abgegrenzt. Vergl. das Aussehen der äufseren Zellwandungen. — 3 Amöbe, welche eine Hefezelle innerhalb der Vakuole birgt. Letztere wird fast vollständig ausgefüllt. — 4 Amöbe mit drei Hefezellen. Bei oberflächlicher Betrachtung ist hier und in 3 eine Verwechslung mit sporenhaltigen Hefezellen leicht möglich. — 5 Dieselbe Amöbe wie in 4, jedoch fünf Minuten später. Hyaline Plasmamassen werden nach der einen Seite hin ausgestülpt. Auf einem der buckeligen Vorsprünge ist eben eine Pseudopodie gebildet worden. — 6 stellt eine Amöbe kurz vor der Teilung in zwei Individuen dar. Am Rande zahlreiche, nach verschiedenen Richtungen hin ausstrahlende Pseudopodien. Mehrere grofse Vakuolen. — 7 Grofse Amöbe mit einer sehr grofsen und einer kleinen Vakuole; in ersterer drei Hefezellen schwimmend. — 8 Amöbe mit einer eigentümlich geformten Vakuole und einer Hefezelle. — 9 und 10 Amöben, welche sich zur Weiterbewegung anschicken. Das vorgestülpte Hyaloplasma ist bei 9 schon mit Pseudopodien versehen. — 11 Eine unregelmäfsig geformte Amöbe mit zwei völlig abgestorbenen, zusammengeschrumpften Hefezellen. — 12 Amöbe mit sechs eingeschlossenen Hefezellen. — 13 Die zu einer grofsen Blase umgewandelte Vakuole entleert sich einer Hefezelle. Im körnigen Plasma der Amöbe ein deutlich sichtbarer Zellkern. — 14 Die von einer äufserst feinen Haut (die nur bei angestrengtem Sehen erkennbar ist) umgebene, vorgestülpte Blase ist infolge eines plötzlichen Risses der Vakuolenwand entstanden. Die Hefezellen sind aus der Vakuole in jene Blase getreten und durchbrechen hier die feine Haut derselben. — 15 und 16 bedürfen keiner näheren Erläuterung. — 17 und 18 stellen zwei beim Eintrocknen zu Sporen ausgebildete Amöben dar.

noch eine blasige resp. sackartige Ausstülpung, in welche die Hefezellen hineinbefördert werden. Die Haut dieser Blase ist so fein, dafs man sie nur mit angestrengtestem Auge bemerkt. Indem diese dünne Haut leicht zerreifst, erlangen die Hefezellen wieder ihre Freiheit. Allerdings ist es fraglich, ob diese Freiheit für sie noch einen Wert hat; viele von ihnen sind sicher der langen Schröpfprocedur erlegen. Andere dagegen scheinen, wenigstens dem mikroskopischen Aussehen nach, noch mit dem Leben davonzukommen. Nach Beendigung eines solchen Entleerungsprozesses kann die Amöbe die Jagd auf neue kräftige Hefezellen wiederum beginnen. Bei der Ortsveränderung, zu der sie sich zu dem Zweck anschickt, verfährt sie nicht immer willkürlich, sondern sie kundschaftet erst die Umgegend aus mit Hilfe kleiner, spitz auslaufender Plasmafäden, die gleichsam als Fühlhörner funktionieren. Stöfst eines derselben auf einen festen Körper, so währt es nicht lange und der ganze Amöbenkörper nimmt seine Bewegung nach dieser Richtung hin. Die Möglichkeit der Ortsveränderung hört auf mit dem Eintrocken des Substrates. Mit dem Eintritt dieser neuen Bedingung trifft die Amöbe auch ihre besonderen Vorkehrungen. Die Vakuolen verschwinden, das ganze Plasma ballt sich zusammen und umgiebt sich nach aufsen mit einer ziemlich derben, auf der Oberfläche rauhen und splitterigen Hülle. Wir haben nunmehr eine Dauerzelle, eine Sporocyste, vor uns. Nach dem Eintrocknen des Gipsblockes sind zahlreiche solche Gebilde zwischen den Hefezellen zu konstatieren. Einige von den vorstehend gegebenen Zeichnungen zeigen eine grofse Übereinstimmung mit den von Cienkowsky für Protomonas amyli gegebenen, einer Amöbenart, die mit Vorliebe stärkehaltige Substanzen befällt und Stärkekörner aufzehrt. (In dem Zellgewebe kranker Kartoffeln wird sie des öfteren gefunden.)[1])

Aufser auf Gypsblöcken konnte Verfasser ein massenhaftes Auftreten von Amöben in einem stark gärenden Fruchtsafte, der einige Tage lang in einem offenen Gefäfse im Zimmer gestanden hatte, konstatieren. Der Saft war ziemlich stark sauer. Die Amöben zeigten sich äufserst lebendig und trieben auch hier ihre Jagd auf Hefezellen. Bemerkt sei hier noch, dafs bereits Rees in seinen „Botanischen Untersuchungen über die Alkoholgärungspilze 1870“ einen ähnlichen Fall beobachtet hat. Er schreibt S. 57: „In ganz nassen Hefekulturen auf Möhren etc. kommen zuweilen Infusorien zur Entwicklung, welche die Hefezellen mechanisch auffressen.“[2])

---

[1]) Zur Orientierung über Amöben verweise ich auf das vortreffliche Buch von W. Zopf: Die Pilztiere oder Schleimpilze. Breslau 1885.

[2]) Es gab eine Zeit, in der man die Hefe selbst für Infusionstierchen hielt, resp. für Eier von solchen. Bei mäfsiger Wärme sollten diese Eier ausgebrütet werden, durch eine zu hohe oder zu niedrige Temperatur aber vernichtet werden.

Beijerinck ist es gelungen, Amöben, ähnlich wie Hefen, auf festen Nährböden zu kultivieren, z. B. auf Malzwürzegelatine, Fleischsaftgelatine und Agar-Agar. Die von ihm auf Trauben, die von Wespen angenagt worden waren, gefundene Art, der er den Namen Amoeba zymophila gegeben hat, gedeiht aber nur dann besonders gut, wenn gleichzeitig Apiculatushefe oder Essigsäurebakterien mit ausgesäet werden.

Die Amöben bilden einen schleimigen Überzug auf der Gelatine, besonders in der Nähe der Hefekolonien; später wird die Gelatine durch die von ihnen ausgeschiedenen Enzyme verflüssigt.

Amoeba zymophila führt einen Zellkern; pulsierende Vakuolen und Nebenvakuolen wurden nicht beobachtet. Beim Übertragen in Wasser platzen viele Zellen. Sporen- und Cystenbildung wurde nicht beobachtet.

Auch in den Gärungsbetrieben findet man Amöben häufig genug. Fast an jeder Bürste, jeder feuchten Wandfläche, in lange Zeit im Keller leer gestandenen Bottichen, an Hefepressen u. s. w. wachsen sie zahlreich. Verf. hat sogar Bottiche angetroffen, deren Boden ganz schlüpfrig war von solchen Amöbenmassen, die in den zurückgebliebenen Hefenzellen reichliche Nahrung gefunden hatten. Man findet Amöben ferner auf dem Getreide- und Malzkorn, in dem Weichwasser und dem Wasser der Keimapparate, in den Abzugskanälen der Trommelmälzereien, auf den Staub- und Zooglöahäuten der Wasserreserven, in denen das Wasser lange Zeit gestanden, ferner an den Zinkbelägen der Ausgufsbecken im Laboratorium u. s. w.

In Abb. 19 sind ebenfalls noch einige Amöben dargestellt, so in a, i, k, l, m, n. Die durch einen Pfeil verbundenen Abb. i und i1 stellen dieselbe Amöbe dar; in der Richtung des Pfeiles fand die Fortbewegung statt. Der Abstand zwischen den beiden Vorderenden entspricht dem in einer Minute zurückgelegten Weg; derselbe betrug 154 μ = 0,154 mm. Auf der Oberfläche sehen wir 3—4 Streifen eingezeichnet. Dies sind feine Falten, welche die äufserste Schicht gebildet hatte; im Innern sehen wir sowohl Vakuolen, als zellkernartige Gebilde. Das Plasma ist am Vorderende völlig durchsichtig, hyalin, nach hinten sehr körnchenreich. In m, n sehen wir Amöben mit langen, dünnen Scheinfüfsen (Pseudopodien), die strahlenartig die Hauptmasse umgeben.

Schleimpilzamöben. Henneberg beobachtete auf mit Hefe bestrichenen Gipsblöcken aufser den gewöhnlichen Amöbenformen solche,

---

Der Hergang der Ausbreitung sollte folgender sein: Nach erfolgter Berührung mit der zuckerstoffhaltigen Flüssigkeit, der Bierwürze von entsprechender Temperatur, werden die Eier ausgebrütet, die Infusionstierchen kommen zum Vorschein, verschlucken Zuckerstoff, und geben dagegen durch ihre Absonderungsorgane Weingeist und kohlensaures Gas von sich. Noch während der Gärung legen die entstandenen Infusionstierchen ihre Eier und sterben sodann ab. (Vergl. Friedrich Meyer: Die bayerische Bierbrauerei in allen ihren Teilen. Nürnberg 1847. S. 186.)

die sich durch eine lange Geifsel ziemlich schnell fortbewegten. Nach einiger Zeit erschienen auf den unter einer Glocke feucht gehaltenen Gipsblöcken kleine bräunliche Schleimmassen, die sich netzartig ausbreiteten, ihre Form veränderten und Bewegung zeigten. Später, als die Gipsblöcke allmählich eingetrocknet waren, fanden sich an Stelle der braunen Schleimmassen ganze Reihen von kleinen, auf kurzen Stielen ruhenden, bläulich-weifsen rundlichen Köpfchen vor, die ungefähr die Gestalt eines kurzgestielten Köpfchenschimmels (Mucor) hatten. Dieser Schleimpilz erwies sich als Physarum leucophaeum Fr. (Zopf, Pilztiere

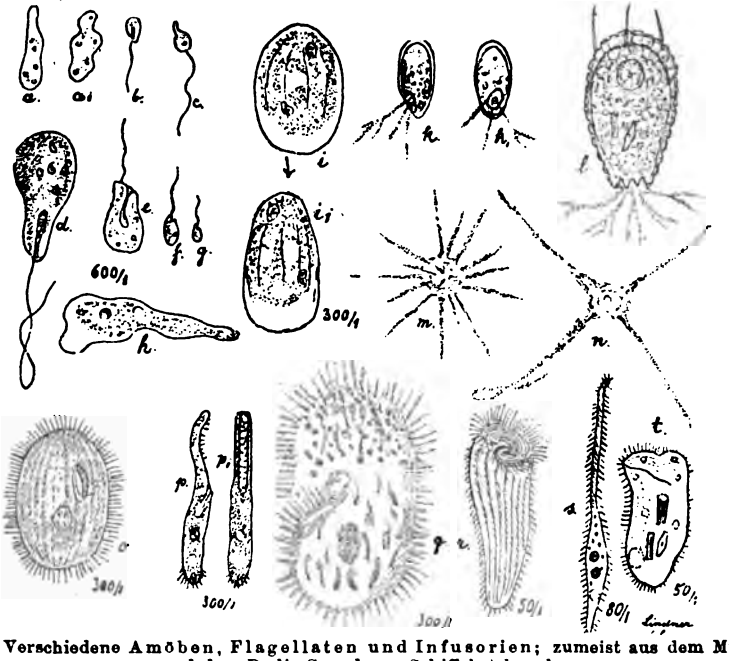


Abb. 19. Verschiedene Amöben, Flagellaten und Infusorien; zumeist aus dem Müggelsee und dem Berlin-Spandauer Schiffahrtskanal.
b—g sind Flagellaten oder Geifselinfusorien. a, i, m, n sind nackte Amöben. k und l sind Amöben mit besonderen Gehäusen. k Trinema enchelys. l Euglypha alveolata. o—t Infusorien.

oder Schleimpilze, 1885, S. 144 — De Bary, Mycetozoen, 1864, S. 3). Da die erwähnten Amöben und Schleimpilzfrüchte aufser auf Gipsblöcken auch in Heuinfusen an den Wänden des Glases und fast stets in den Gersten-Keimapparaten an den ausgekeimten Körnern gefunden wurden, erschien es Henneberg von Interesse, zu untersuchen, ob die so sehr häufigen Amöben mit dem genannten Schleimpilz in Zusammenhang stehen. Dies ist der Fall; die Entwicklung von der Spore bis zu den Früchten wurde mehrmals in den Kulturen beobachtet. Aus den Sporen der Früchte gingen stets die betreffenden Amöben hervor.

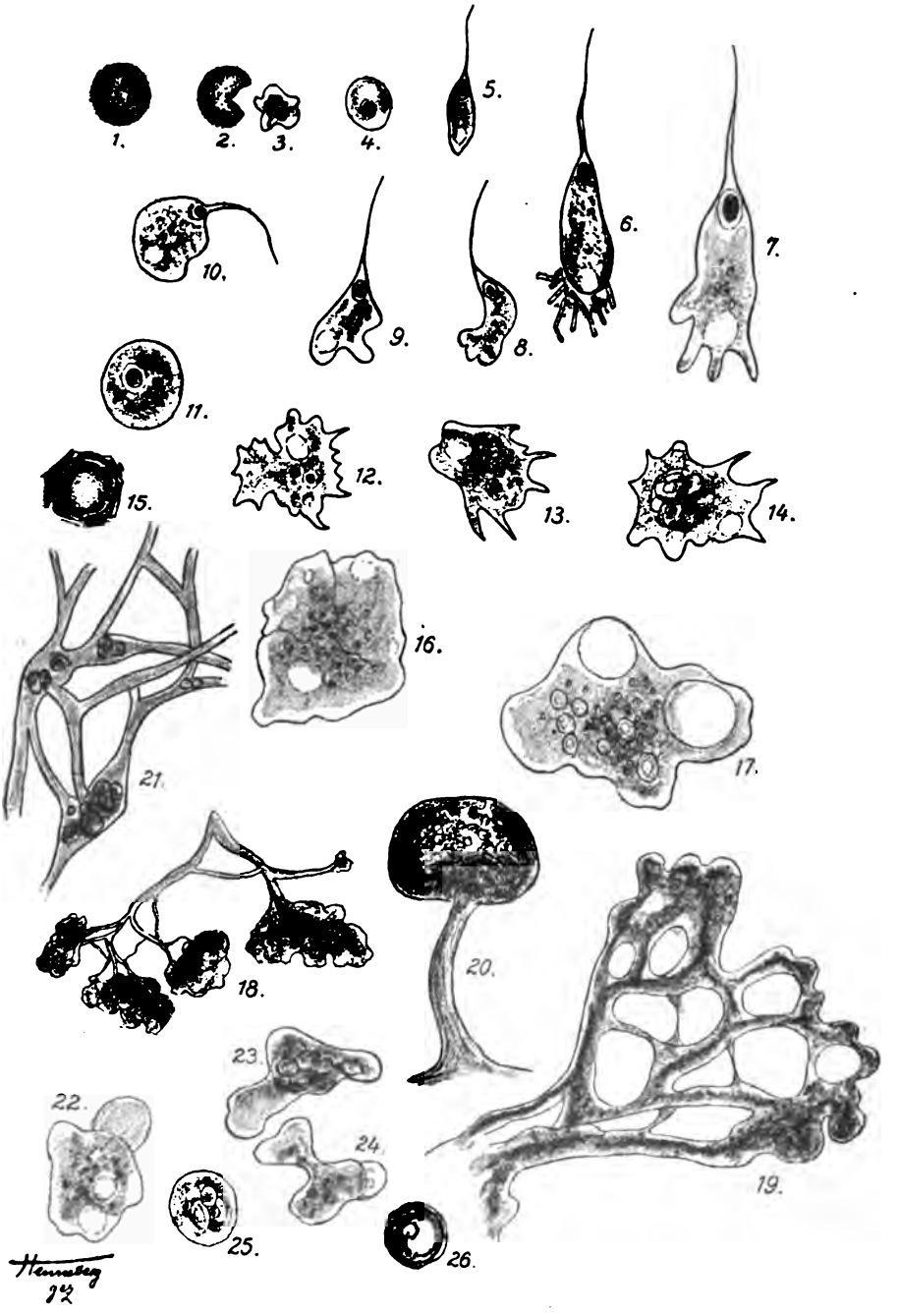


Abb. 20.

(Text hierzu siehe nächste Seite.)

1–21 Schleimpilz (Physarum leucophaeum Fr.).
(Vergrößerung: 1—17 = 750fach; 18 = 5fach; 19 und 20 = 50fach; 21 = 430fach.)
1 Spore. — 2 Ausgekeimte Spore. — 3 Junge Amöbe. — 4 Ruhende Amöbe, im Innern der Kern. — 5 Schwärmzelle, Kern an der Basis der Geifsel. — 6 Grofse Schwärmzelle. In der Gegend der kontraktilen Vakuole haben sich Bakterien angesammelt. — 7 und 9 Schwärmzellen mit amöboider Bewegung des Körpers. — 8 Schwärmzelle bei zitternder Bewegungsform. — 10 Schwärmzelle geht in den Ruhezustand über. — 11 Wie 4. Ausgewachsene Form der Einzelamöbe. — 12 und 13 Amöben mit spitzen Pseudopodien. — 14 Amöbe mit aufgenommenen Hefezellen. — 15 Dauerruhezustand (Encystierte Amöbe). — 16 Drei Amöben sind zusammengeflossen. — 17 Dieselbe Amöbe wie 16, in Bewegungsform, mit zwei grofsen Vakuolen und mit Hefezellen. — 18 Plasmodium, durch Zusammenfliefsen vieler Einzelamöben entstanden. — 19 Ein Teil des Plasmodiums. — 20 Fruchtkörper (Sporangium oder Sporocyste). — 21 Haargeflecht (Capillitium) mit Kalkeinlagerung, aus dem Innern des Fruchtkörpers.

22–26 Tieramöben. (Vergrößerung 750fach.)
22 Amöbe mit dem hervorquellenden körnerfreien Plasma (Pseudopodie). — 23 Amöbe mit aufgenommenen Hefezellen. — 24 Amöbe in kriechender Form wie 22. — 25 Ruhende Amöbe mit Hefezellen im Innern. — 26 Dauerruhezustand (Encystierte Amöbe).

Die Entwicklung eines solchen höher organisierten Schleimpilzes ist in den meisten Fällen in den Hauptzügen folgende:

Die runden derbwandigen Sporen etwa von der Gröfse einer Hefezelle quellen im Wasser auf, zerplatzen und entlassen durch einen klaffenden Spalt eine kleine Amöbe. Diese nimmt eine gestreckte, etwa birnförmige Form an und bewegt sich durch eine am vorderen Ende befindliche Geifsel ziemlich schnell von der Stelle. Nach einiger Zeit kommt diese „Schwärmspore“ zur Ruhe und verwandelt sich in die Gestalt einer Amöbe, indem sie sich durch Ausstülpungen von Plasmamassen (Pseudopodien) kriechend fortbewegt. Nach Erreichung einer bestimmten Gröfse teilt sich die Amöbe, was sich fortdauernd wiederholt. Diese mikroskopisch kleinen Amöben verschmelzen nach einiger Zeit zu einer oft mehrere Centimeter grofsen Schleimmasse (Plasmodium). In diesem Zustand — als allgemein bekanntes Beispiel kann die gelbe „Lohblüte“ dienen — führt die oft netzförmig verteilte zähflüssige Schleimmasse langsam kriechende Bewegungen aus. Unter günstigen Bedingungen entstehen aus den Plasmodien je nach den Arten verschieden gestaltete, gestielte oder ungestielte, blasenförmige Fruchtkörper (Sporangium oder Sporocyste), die im Innern eine grofse Menge meistens violetter Sporen und häufig ein zartes Netz von feinen Fasern (Capillitium) tragen. Nach der Reife zerplatzt die Wandung des Sporenbehälters, und die Sporen können durch den Wind überallhin verbreitet werden. Bei ungünstigen Bedingungen, z. B. Trockenheit, können die einzelnen und die zusammengeflossenen Amöben, die wieder in einzelne Teile zerfallen, sich mit einer festen Membran umgeben (encystieren) und so ihr Leben erhalten. Aus diesem Zustand, in dem sie ebenfalls durch den Wind verbreitet werden können, sind sie, wenn sie befeuchtet werden, selbst nach Jahren wieder in die bewegliche Form zu bringen.

Näheres über die Schleimpilze, besonders über deren Amöben, werden wir aus der nun folgenden Besprechung der Kulturversuche mit Physarum leucophaeum erfahren, da im wesentlichen sich alle höher organisierten Schleimpilze ähnlich verhalten.

Es gelingt sehr leicht, in einem Tröpfchen auf der unteren Seite des Deckglases im hohlen Objektträger eine Spore zu isolieren. Die Temperatur von ca. 20° C. ist sehr günstig, 30° ungünstig.

Eine Spore, in Pferdemistdekokt gebracht, keimte in der Objektträgerkultur nach 8 Stunden. Die zuerst schwärmende Zelle war nach weiteren 9 Stunden in die kriechende Amöbenform, nach 30 Stunden (vom Ausschlüpfen an) in die ruhende, runde Form übergegangen. Nach 42 Stunden waren 3 Amöben, nach 49 Stunden 7, nach 58 Stunden 13, nach 133 Stunden 127 und nach 140 Stunden 135 Amöben vorhanden. Eine Amöbe, isoliert, hatte sich nach 6 Stunden geteilt; nach 16 Stunden waren es 4, nach 21 Stunden 8, nach 29 Stunden 14, nach 38 Stunden 25, nach 46 Stunden 27, nach 51 Stunden 29. Von dieser Zeit an fand der mangelnden Nahrung wegen keine weitere Vermehrung statt. Die Amöben gingen allmählich in die ruhende Form über, am 7. Tag waren noch 6, am 9. Tag nur noch 3 beweglich, und am 10. Tag waren sie sämtlich unbeweglich.

Wie Hefezellen, so werden auch Bakterien oft in grofsen Mengen von den Amöben aufgenommen. Meistens liegen diese in den Vakuolen aufgespeichert. Wieder ausgeschieden, bleiben sie oft, von einem Schleier umgeben, an der äufseren Wandung des Amöbenleibes hängen und werden bei der Fortbewegung mit herumgetragen. Ein ganzer Büschel von lebhaft sich bewegenden Bakterienarten gesellt sich freiwillig zu diesen von Schleim eingehüllten Bakterien. Öfters encystierten sich einige Amöben in den hängenden Tropfenkulturen ohne erkennbaren Grund, während die übrigen in beweglichen Zuständen blieben. Regelmäfsig können die Ruhezustände (15) hervorgerufen werden, wenn man die Kulturen langsam austrocknen läfst. Bringt man diese encystierten Formen in geeignete Nährlösung, so kriechen in kurzer Zeit, meistens nach 1 Tag, die Amöben wieder aus ihnen hervor. Nach 17 Monaten Trockenheit waren fast alle encystierten Amöben noch zum Keimen zu bringen. Öfters sterben die Amöben in den Objektträgerkulturen ab, das Plasma wird dabei stark lichtbrechend und vergeht schnell.

Ist die Ernährung eine günstige, so legen sich einige Amöben aneinander und flieſsen zu einer gröfseren zusammen (16, 17). Auch in den kleinen Tropfenkulturen im hohlen Objektträger finden sich allmählich solche grofse Amöben ein, die wie die oben beschriebenen sich abrunden und encystieren können. Regelmäfsig bleibt die Entwicklung unter diesen Kulturbedingungen hier stehen. Bei den viel günstigeren Bedingungen auf offenen Objektträgern dagegen flieſsen nach und nach immer mehr Amöben zusammen. Die noch kurze Zeit sichtbaren zarten Umrisse der Einzelwesen verschwinden, und es zeigt sich nun im Innern eine lebhafte Plasmaströmung. Es schmelzen nun weiter auch diese grofsen, mit unbewaffnetem Auge schon sichtbaren Amöben zu grofsen

Schleimmassen zusammen (Plasmodie). (Fig. 18, 19.) Diese haben nicht mehr die Amöbengestalt, sondern stellen zarte Netze oder strauchartig verzweigte Gebilde dar, die allmählich ihre Gestalt ändern und sich langsam von der Stelle bewegen können.

Unter dem Mikroskop sieht man im Innern dieser Plasmodien viele kleine Körnchen, an einigen Stellen wie in einem engen Fluſs vorüberströmen, an anderen Stellen wie in einem See nur sehr langsam fließen. Diese Strömungen wechseln nach einiger Zeit ihre Richtung und Bewegungsschnelligkeit nach der Stelle hin, wo eine Fortbewegung stattfindet.

Die Plasmodien dieses Schleimpilzes sind je nach der Menge der aufgenommenen Körper und je nach der Ausdehnung hell bis dunkelbraun gefärbt, so daſs sie auf den weiſsen Gipsblöcken und auf Filtrierpapier sehr deutlich sichtbar sind. Bei starker elektrischer Beleuchtung, bei Trockenwerden oder ungünstiger Ernährung ziehen sie sich oft ganz auf einen kleinen rundlichen Fleck zusammen. Es gelang aus diesem Grunde nicht, sie bei elektrischer Beleuchtung zu photographieren. Werden sie von einem leisen Wasserstrahl unter der Wasserleitung längere Zeit berieselt, so dehnen sie sich wieder weit aus. Die Zeit, in der die Plasmodien entstehen, ist sehr verschieden, was auf die Ernährung zurückzuführen sein dürfte. Auf neu mit Hefe bestrichenen Gipsblöcken hatten sie sich bis zum 19. Tage, auf gekochtem Pferdemist schon bis zum 10. Tag gebildet. Interessant ist, daſs die Plasmodien auch auf der Oberfläche von Flüssigkeiten schwimmend sich halten können. Dies trat aber nur ein, wenn bei dem häufigen Begieſsen der Gipsblock mit Pferdemistdekokt nach und nach das Wasser genügend Nährstoffe erhalten hatte, um eine zarte Bakteriendecke aufkommen zu lassen, so daſs dadurch ein Stützpunkt gegeben war.

Es gelingt ohne weiteres, Teile von einem Plasmodium loszulösen und auf den feuchten Objektträger zu übertragen, auf dem diese Teilstücke sich bald wieder ausdehnen und weiter leben.

Gute Fruchtbildung erhält man leicht auf Gipsblöcken, auf Pferdemist und besonders bei Gerstenkeimversuchen (Abb. 49 Seite 108). Die meist 0,6—0,8 mm hohen Früchte sind einem Mucor ähnlich; auf weiſsem oder bräunlichem kurzem Stiel ruhen kugelige grauweiſse Köpfchen (Abb. 20 Fig. 20). Mit dem hautartig ausgebreiteten Stielende sind sie auf der Unterlage festgeheftet. Durch körnige Kalkausscheidungen erscheinen die reifen Früchte weiſs bestaubt, während die unreifen, bräunlich gefärbten keine Kalkschüppchen zeigen.

Ähnlich wie Hefe als Nahrung von den Amöben aufgenommen wird, fallen den parasitischen Amöben auch Blutkörperchen zum Opfer. Bei der Dysenterie findet man in den Stuhlgängen groſse Amöben mit roten

Blutkörperchen vollgestopft. Diese Amöbe wird als pathogen angesehen und als Amoeba coli dysenterici von der überaus ähnlichen Amoeba coli communis in normalen Stühlen unterschieden. Vom Darm aus gelangt die erstere Varietät auch in die Leber, in der sie zu Abscessen führt.

Von anderen Amöben des Menschen ist die Amoeba urogenitalis zu nennen, welche in der Harnblase die Schleimhäute befällt.

Die Babesia bovis ist ein dem Rinde gefährlicher Parasit; er erzeugt das sogen. Texasfieber, das mit Blutharnen verknüpft ist (Hämoglobinurie).

Die Babesia ovis ist der Erreger des Carceag der rumänischen Schafe. Beide Parasiten leben in den roten Blutkörperchen. In Texas ist bei der Übertragung der Seuche die Mitwirkung einer blutsaugenden Zecke (Ixodes bovis) nachgewiesen.

Ähnlich wie die Babesia verhalten sich die verschiedensten Parasiten des Malariafiebers, indem sie innerhalb der roten Blutkörperchen schmarotzen; sie bilden aber hier auch Sporen aus. Sie werden der Gruppe der Hämosporidien zugerechnet, die in den verschiedensten Tierklassen (Reptilien, Vögel, Säugetiere) schmarotzern.

Das Studium dieser Art Infektionskrankheiten ist erst neueren Datums.[1])

Die Abb. 19 b—g stellen Geifselinfusorien, Flagellaten, dar; auch sie sind häufig im Wasser anzutreffen. Einzelne Arten leben im Darm des Menschen und in Organen mit reichlichen Schleimabsonderungen (Cercomonas intestinalis und Trichomonas vaginalis). Die Geifsel ist in beständiger Thätigkeit und fängt kleine Körperchen ein, die sie einer kleinen, mundartigen Spalte zuführt. Die Gestalt vieler Flagellaten erinnert an die Samenfäden höherer Tiere.

Fig. k und l stellen Amöben dar, welche sich bereits ein Gehäuse gebaut haben. Die Trinema enchelys (k1) ist mit einer glatten Schale, die vielleicht aus Chitin besteht, versehen; an einer schräg angesetzten Fläche befindet sich eine eiförmige Öffnung, durch die zumeist 3 zarte Scheinfüfschen nach aufsen vorgestreckt werden.

Eine gröfsere Form, die Euglypha alveolata (l), besitzt ein Gehäuse, das aus lauter uhrglasschälchenähnlichen Elementen aufgebaut ist. Die kleinen Häkchen, welche die glänzende Kugel im Innern umlagern, sind Neubildungen von solchen Schalenelementen. Die Öffnung des Gehäuses ist zackig; die Zahl der Pseudopodien wechselt sehr. Es giebt wohl kaum einen Organismus, dessen Lebenserscheinungen so genau in ihren Einzelheiten verfolgt sind, wie von dieser Euglypha, die in unseren Süfswässern fast immer anzutreffen ist. Sie lebt von kleinen Algen,

[1]) Eine sehr gute Zusammenstellung giebt W. Kruse in Flügges „Die Mikroorganismen mit besonderer Berücksichtigung der Ätiologie der Infektionskrankheiten". Leipzig 1896, Verlag von F. C. W. Vogel.

und sehen wir auch in der Zeichnung einige Kieselalgen im Innern eingebettet.

Wir wenden uns nun derjenigen Gruppe von niederen Tieren zu, welche durch ihre zierliche Form und durch ihre munteren Bewegungen den Beobachter besonders zu fesseln im stande sind. Es sind die Infusorien- oder Aufgufstierchen. Auch sie stellen nur einzellige Organismen dar, aber die Zelle hat schon aufserordentliche Differenzierungen aufzuweisen. Da sehen wir die Hautschicht, die im äufsersten Grade elastisch ist, mit zahlreichen kleinen Wimpern besetzt, welch letztere so aufserordentlich schnelle Bewegungen ausführen können, dafs wir denselben nicht mehr zu folgen vermögen. Die Stellung sowohl als die Anzahl der Wimpern ist für die nämliche Species immer ziemlich genau dieselbe.

Abb. 19o zeigt uns einen kürbisähnlich geformten Körper mit meridianartigen Streifensystemen. Die Wimperhärchen haben alle ziemlich dieselbe Gröfse. Im Innern liegt ein Zellkern. Oben rechts ist die Mundöffnung, deren Ränder bewimpert sind und wie Augenlider sich bewegen.

Das weiter rechts stehende Infusorium p p1 sehen wir häufig auf Algenfäden. Hier werden die kleinen Wimperhärchen (namentlich die in der rinnenartigen Vertiefung des Vorderteils liegenden) gleichsam als Beine verwendet. Die von ihnen erfafste Nahrung wird einem am hinteren Ende der Rinne sichtbaren Schlund zugeführt, der in eine Vakuole mündet. In dieser sammelt sich allmählich die Nahrung an, der Schlund schliefst sich dann, und die Vakuole, die jetzt gleichsam einem gefüllten Magen entspricht, rückt weiter in das Innere des Zellleibes, wo die Verdauung vor sich geht. Der unverdaute Rest wird nach aufsen entleert. Abb. 19q zeigt ein Infusorium mit ungleichartiger Bewimperung. Hier ist links eine gröfsere Schlundöffnung sichtbar, auch ein gröfserer, eiförmiger Zellkern.

Eines der gröfsten Infusorien, das uns auch schon mit bloßsen Augen als kleiner, blaugrüner Punkt im Wassertropfen sichtbar wird, ist die in Abb. 19r gezeichnete Art. Sie hat das Aussehen einer Trompete und führt den Namen Stentor. Der Schallöffnung der Trompete entspricht die obere Endigung, deren Ränder mit zahlreichen Wimpern spiralig den Schlund einfassen. Die ganze Einrichtung ist ein Strudelapparat. Indem das Wasser in rotierende Bewegung versetzt wird, werden auch die in der Nähe befindlichen kleinen Körperchen davon ergriffen und in die Spitze des Strudels, die in dem Schlund des Infusoriums liegt, hinabgeführt.

Abb. 19s stellt das sogenannte Schwanentierchen vor, das dem in p dargestellten ähnlich sieht, nur einen längeren Hals aufweist. Bei dem nächstfolgenden Infusorium (t) fällt uns der fischreusenähnliche Bau des Schlundes auf. Besonders deutlich können wir den Ernährungsvorgang bei dem in Abb. 21a dargestellten, pantoffelähnlich geformten Tierchen erkennen. Auch hier ist eine Rinne mit lauter Wimpern be-

setzt, dann ein Schlund und am Ende desselben eine Vakuole. Der Schlund sitzt auch voller Wimpern, die in beständiger Bewegung sind. Die gefüllten Vakuolen werden vom Schlund losgelöst und rücken in der weichen Leibesmasse weiter vor, wo sie infolge der Verdauungsthätigkeit des Plasmas immer kleiner werden, bis schliesslich der übrigbleibende Inhalt als Kotballen an irgend einer Stelle nach aufsen entleert wird. Noch besser wie bei den Schwanentierchen kann man bei dem Euplotes Charon (Abb. 21 b) die fortschreitende Bewegung verfolgen. Die Gestalt des Tierchens erinnert uns beinahe an eine Blattwanze. Die Rückenseite ist frei von Wimpern, wogegen die Bauchseite stark besetzt ist.

Die bisher betrachteten Arten hatten wir fast immer freischwimmend oder kriechend angetroffen. Die folgenden sitzen zeitweise auf dem Sub-

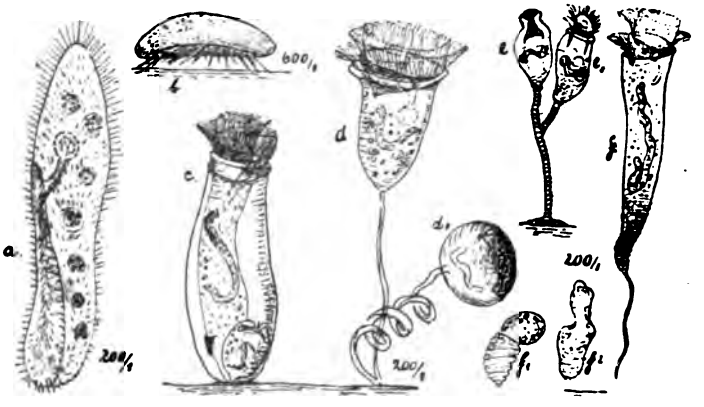


Abb. 21. Verschiedene Infusorien.
a Pantoffeltierchen. b Euplotes Charon. c Vaginicola. d Vorticella (Glockentierchen). d_1 mit spiralig zusammengerolltem Stiel und eingezogenem Strudelapparat. e Epistylis. f Ophridium versatile. f_1 und f_2 ungestielte Individuen.

strat fest, ja haben sogar ein kleines Gehäuse, wie die Vaginicola oder das Scheidentierchen in Abb. 21 c. Das Gehäuse ist flaschenförmig, das Tierchen selbst lang-cylindrisch gestreckt, so lange es den Strudelapparat in Bewegung erhält. Die Wimpern führen ihre Bewegungen meist gleichzeitig in derselben Richtung wie auf Kommando aus. Bei aufmerksamer Beobachtung können wir sehen, wie die kleine, vom Strudel erfafste Beute in den langen Schlund geschleudert wird. Noch fällt uns auf der grofse, wurmartig gekrümmte Zellkern. Zeitweise klappt das ganze Tierchen im Augenblick zu einer kugelartigen Masse zusammen. Am Grunde der Flasche sehen wir noch einen kleinen Mitbewohner derselben Art.

In den folgenden Abbildungen sind die Infusorien mittels langer Stiele auf der Unterlage befestigt. Diese Stiele sind bei dem Glockentierchen oder Vorticella (d, d_1) mit einem muskelartig funktionierenden Streifen

versehen, der bei der Kontraktion den Stiel zu einer Spirale zusammenlegt. Bei Epistylis in Abb. 21e ist der Stiel quergestreift und nicht zusammenrollbar. Zeitweise lösen sich die Tierchen von den Stielen ab und schwimmen frei umher. Von besonderem Interesse ist es, zu verfolgen, wie nach erfolgtem Einziehen des Strudelapparates die Spirale des Stieles sich wieder lockert und wie fast gleichzeitig auch der Strudelapparat sich allmählich wieder entfaltet.

Im Herbst finden wir manchmal in unsern Wässern Pflanzenteile oder andere im Wasser flutende Körper mit einer dicken, grauweifsen, schleimigen Schicht überzogen. Es ist diese manchmal fast ausschliefslich aus Infusorien oder, falls diese schon abgefallen sind, aus den Stielen derselben gebildet. Wir können bei oberflächlicher Betrachtung des mikroskopischen Bildes oft den Eindruck bekommen, als hätten wir Fadenbakterien oder Schimmelpilzfäden vor uns.

Ein besonders günstiges Material zur Beobachtung des Infusorienlebens bieten die im Frühjahr in unseren Teichen und Seen an den seichteren Partien zur Entwicklung gekommenen wallnufsgrofsen, gallertigen, grün gefärbten, hohlen Polster des Ophridium versatile. Hier sind Tausende von Individuen in einer Gallertschicht vereinigt, in der aufserdem noch gewisse Fadenbakterien wuchern. Die Tierchen sind von zahlreichen kleinen grünen Kügelchen erfüllt und erscheinen deshalb grün. Diese Körper stellen kleine Algen dar. Wir haben hier das Beispiel einer Symbiose vor uns, eines Zusammenlebens verschiedener Organismen, die mehr oder weniger sich gegenseitig in ihren Lebensäufserungen unterstützen.

Einzelne Infusorien schmarotzen auch im tierischen Körper, so die mundlosen Opalinen und viele Bursariden im Darm und in der Harnblase von Wirbeltieren. Das Balantidum coli kommt im Dickdarm des Menschen in gröfseren Mengen vor, aber nur, wenn eine Erkrankung der Schleimhaut (chronische Diarrhoe mit und ohne Geschwüre, Ruhr, Typhus) vorherging. Im Darm des Schweines kommt dieses Infusorium ebenfalls vor.

Auch Tiere von schon komplizierterer Organisation erscheinen öfters im Wassertropfen. Hier seien nur wenige, besonders auffällige Beispiele herausgegriffen. Da erscheint ein kleiner Fadenwurm, der sich lebhaft krümmt und mit seinen beiden Enden alles im Wege Stehende auseinanderpeitscht. Er ähnelt aufserordentlich dem Essigälchen, das im trüben Essig schon mit blofsem Auge kenntlich ist (siehe Abb. 22 und 24). Der langgestreckte cylindrische Leibesschlauch umschliefst eigentlich nur ein einziges gröfseres Organ, dem Darmkanal, in dem wir auch die Nahrung noch deutlich erkennen können.

Komplizierter gebaut sind schon die ebenfalls den Würmern zugehörigen Arten, die zahlreiche Borsten in der äufseren Leibeswand sitzen

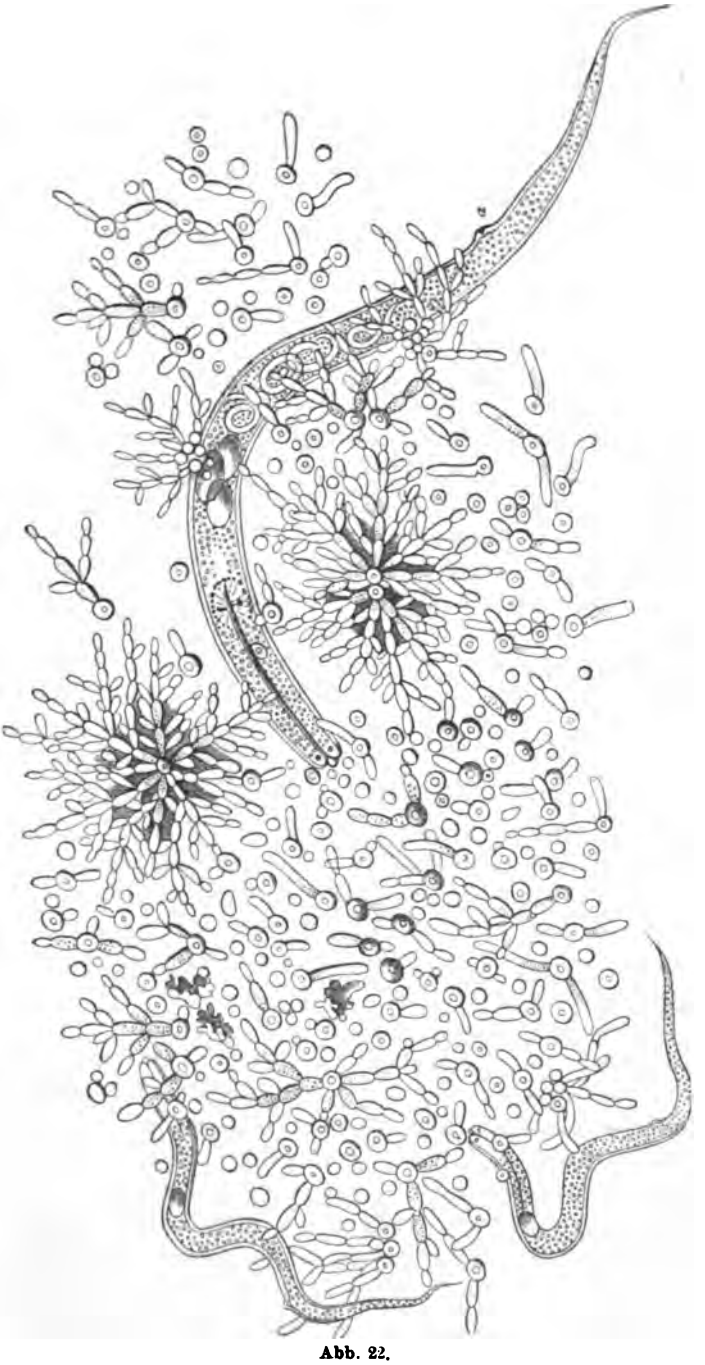


Abb. 22.
Essigälchen aus einer Essigmutter, die fast ausschliefslich von essigsäurebildenden Hefen gebildet ist. Ältere Zeichnung von Turpin.

haben. Wir sehen die „peristaltischen“ Bewegungen des Darmkanals, der sich abwechselnd zusammenzieht und wieder ausdehnt, sehen auch die ringförmige Muskulatur, die diese Bewegungen vermittelt, und die Muskelfasern, an denen der Darm an der Leibeswand aufgehängt ist. Bei näherem Zusehen erkennen wir auch einen langgestreckten, dünnwandigen, hohlen Schlauch mit regelmäfsig pulsierenden Bewegungen: das Herz.

Besonders reizvoll ist die Betrachtung der sogen. Rädertierchen (Rotatorien), die, ähnlich den Infusorien, einen grofsen Strudelapparat besitzen. Die Schlundöffnung führt zu einer Kammer, in der ein Kauapparat beständig in Thätigkeit ist, der aus zwei kammartigen Teilen besteht, die sich gegeneinander bewegen, wobei die Zinken ineinandergreifen. Abb. 23a stellt das Weibchen, a_1 das Männchen eines Räder-

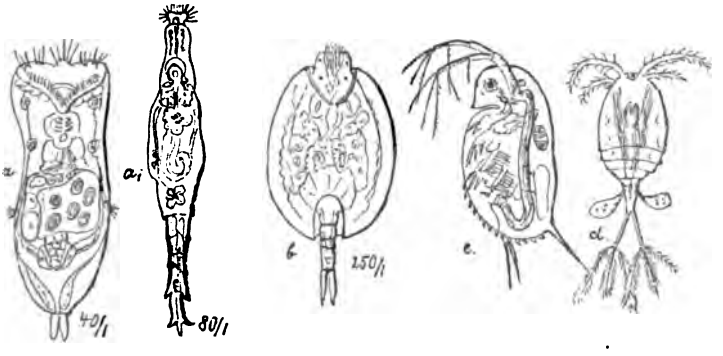


Abb. 23. Rädertierchen und kleine Wasserkrebse.
a Weibliches, a_1 männliches Rädertierchen. c Daphnia, d Weibchen des Cyclopskrebses.

tierchens dar. Die Figuren b, c, d stellen krebsartige Organismen dar, die zum Teil Strudelapparate besitzen, zum Teil Fühlhörner. Die kleine Daphnia (c) mit den beweglichen Augen und Kiemenapparaten, mit dem deutlich sichtbaren Herzen, das zwei seitliche und eine vordere Spaltöffnung zeigt, und dem an den Enden umgebogenen Darmkanal bietet ein besonders fesselndes Bild. Figur d stellt das Weibchen eines Cyclopskrebses dar, das an den beiden Seiten des Hinterendes je ein Eiersäckchen trägt.

Von den bisher besprochenen Wasserbewohnern sind sämtliche für den Menschen unschädlich. Nun giebt es aber auch Pflanzen und Tiere, durch die das Wasser, sofern es zum Trinken verwandt wird, in hohem Grade der Gesundheit gefährlich werden kann. Wir kommen hier in das Gebiet der Hygiene. Leider ist es nicht immer möglich, den Gehalt eines Wassers an pathogenen Organismen sogleich festzustellen. Viele derselben, z. B. unter den Bakterien der Choleravibrio, der Typhusbacillus, sind zu klein und in der Form zu wenig von anderen unschäd-

lichen Bakterien verschieden, als dafs ein Blick durch das Mikroskop sogleich einen Aufschlufs geben könnte. Hier müssen besondere Kulturen angelegt werden. Typhus- und Cholerakeime sind wiederholt im Wasser gefunden worden; den Bacillus der Mäusesepticämie, einer für Mäuse tödlichen Infektionskrankheit, hat Gaffky im Wasser der Panke entdeckt; den Milzbrandbacillus hat man auf feuchten Wiesen, den Bacillus des Wundstarrkrampfes in feuchter Gartenerde gefunden. Es ist klar, dafs auch das in der Nähe befindliche Wasser leicht solche Keime aufnehmen kann. Die Wasserbehälter oder Leitungen vor derartigen Organismen zu schützen, ist eine Hauptbedingung zur Verhütung von Epidemien.

Aber auch tierische Parasiten können durch Genufs von Wasser in den menschlichen Körper gelangen. Das häufigere Vorkommen von Spulwürmern bei Landleuten als bei Städtern läfst sich vielfach durch den Gebrauch der offenen sogen. Ziehbrunnen leicht erklären, in welche die Eier jener Tiere aus in der Nähe abgelagertem Kot gelangt sein werden. Ähnlich verhält es sich mit den Bandwürmern, zu deren vollkommenen Ausbildung jedoch ein „Zwischenwirt" gehört. Die aus den reifen kürbiskernartigen Gliedern des Bandwurms entleerten Eier, in denen oft schon der Embryo sichtbar wird, gelangen mit dem Stuhlgang ins Wasser, verlieren dort ihre Hülle und schwimmen so lange herum, bis sie verschluckt werden und in den Darmkanal eines Tieres gelangen. Durch diesen bohren sie sich hindurch und siedeln sich in irgend einem Organ an, wo sie dann als Finnen beim Schwein, als Blasenwurm beim Hunde ihre Zeit abwarten, bis sie mit dem Fleisch derselben verspeist werden und sich nun zu Bandwürmern in dem neuen Wirt entwickeln können. Die aus dem Ei im Wasser hervorgeschlüpften Embryonen sind, wie manche Infusorien, reichlich mit Flimmerhaaren versehen und äufserst beweglich. Dafs man in fischreichen Wässern solchen Gebilden öfter begegnen dürfte, wird einleuchten, wenn man die Thatsache in Betracht zieht, dafs in einem grofsen Hecht gegen 300 ausgewachsene Bandwürmer (Botriocephalus infundibuliformis) von je 28—35 cm Länge gefunden wurden. Jedes Gliedstück eines solchen Bandwurmes enthält nun wieder Tausende von Eiern.

Distomum haematobium, eine Egelart, wird noch gefährlicher als der Bandwurm für den Menschen; das Männchen hat starke Saugnäpfe und auf der Bauchseite eine lange Rinne, in welche das Weibchen aufgenommen wird. Sie leben paarweise vereint in der Pfortader, im Darm und der Harnblase. Durch die in die Schleimhautgefäfse der Harnleiter, Harnblase nnd des Dickdarmes abgesetzten Eiermassen werden Entzündungen veranlafst, die oft starke Blutungen zur Folge haben.

Anchylostoma duodenale setzt sich im Zwölffingerdarm fest, saugt das Blut aus der Schleimhaut, läfst dasselbe bald wieder gehen

und erneuert den Vorrat. Die Folge davon ist nicht nur ein zeitweiser Verlust von Blut, sondern eine zunehmende, zum Tode führende Blutleere. In ungarischen und französischen Bergwerken, neuerdings aber auch in den rheinisch-westfälischen Zechen, sowie in Ziegeleien bei Köln ist dieser Parasit einheimisch geworden; er ist die Ursache der sogen. „tropischen oder egyptischen Chlorose". Die Ansteckung erfolgte hier offenbar durch den Genufs von mit Kot verunreinigtem Wasser. Für Mafsnahmen gegen diese bösartige Wurmkrankheit sind von den Zechen schon viel hunderttausend Mark verausgabt worden.

In dem Schlamm der Gruben finden die Würmer die günstigsten Bedingungen.

Zur Einführung des wurmhaltigen Schlammes in den Mund ist beim Bergarbeiter reichliche Gelegenheit gegeben. An der Schnaps- oder Bierflasche, am Kautabak, den Speisen haften oft Schlammteilchen. Ansteckung aufserhalb der Gruben ist nur selten beobachtet worden.

Das Essigälchen, Anguillula aceti. (Müll.)

Dies Tierchen hat die Essigsäure zu seinem Schutzpatron erwählt; fast jeder kennt es und fast jeden belustigt es durch die Lebhaftigkeit und Zierlichkeit seiner Bewegungen, die schon mit bloſsem Auge verfolgt werden können. Noch mehr fesselt das Älchen unsere Aufmerksamkeit bei der mikroskopischen Betrachtung, ist es doch fast durchsichtig und die Arbeit aller seiner Organe deutlich zu verfolgen. Letzteres ist allerdings nur möglich, wenn das Älchen etwas zur Ruhe gebracht ist. Am einfachsten verfährt man so, daſs man die mittelst einer Handcentrifuge aus einem Essig gewonnene Älchenmasse zwischen Objektträger und Deckgläschen bringt und das letztere nach unten gekehrt über einer Sparflamme bis zu dem Augenblick erwärmt, bis man mit bloſsem Auge das Aufhören der schlängelnden Bewegungen wahrnimmt.

Ein Älchen besteht eigentlich nur aus einer äufseren Leibeshülle, einem Darmkanal und dem Genitalapparate. Eine enge, konische Mundhöhle führt zum muskulösen Schlund, an dessen Ende ein starkwandiger Kaumagen sitzt, dessen innere Wandungon oft eine ankerförmige Zeichnung erkennen lassen. Der Darmkanal ist fast so lang wie das Tierchen selbst und verläuft am hinteren Ende fast zickzackförmig. Sein Verlauf ist am besten zu studieren bei Älchen, die auf gekochten Kartoffelscheiben gezüchtet wurden. Bringt man Jodlösung zum Präparat, dann erscheint eine blau gefärbte Linie im Darmkanal. Die Älchen selbst haben bei der Berührung mit der Jodlösung ihre Bewegungen eingestellt und sich gerade gestreckt. Ein groſser Teil der Älchen nimmt wegen reichlichen Glykogengehaltes eine rotbraune Färbung an.

Die sackförmigen Ovarien des Weibchens — gewöhnlich ein grofses und ein kleineres — münden gemeinsam in der Mitte des Tierchens aus; in ihnen sieht man, reihenweis gelagert, noch völlig unentwickelte Eizellen, daneben solche mit angefangener Teilung und endlich die in dünnen Eihäuten liegenden, zumeist schon ungeduldig zappelnden Embryonen. Wenn man Glück hat, kann man wohl gerade die Geburt eines jungen Älchens beobachten. In dem kleineren Ovarium sieht man nur selten

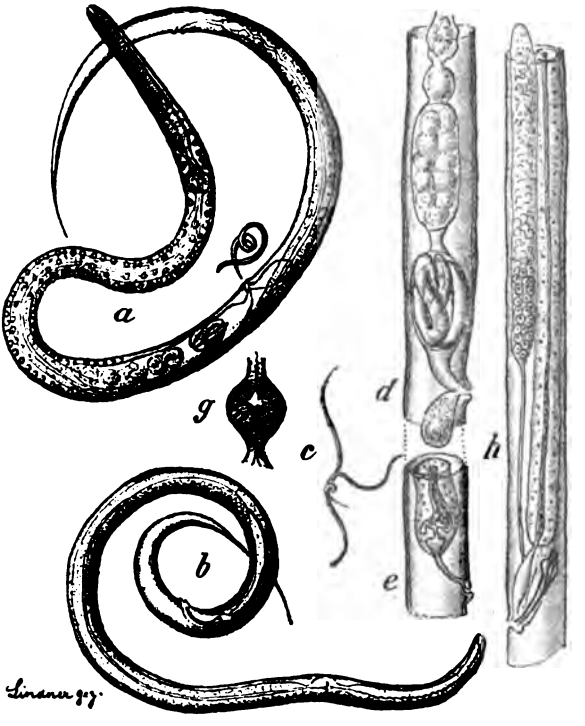


Abb. 24. Das Essigälchen, Anguillula aceti.
a Weibchen; ein junges Älchen ist soeben ausgeschlüpft. b Männchen. c Männchen und Weibchen in der Kopulationsstellung. Das Männchen umschlingt peitschenschnurartig das Weibchen. d Weiblicher Gentilapparat mit einem bereits ausgebildeten Älchen und noch in der Entwicklung begriffenen Eizellen. e Ende des Darmkanals mit After. g Muskulöser Kaumagen. h Hoden und Darmkanal vom Männchen; beide oberhalb der beiden Begattungsborsten (Spiculae) ausmündend.

Entwicklungszustände, es scheint fast, als ob dies Organ mehr ein Receptaculum seminis darstellt.

Die Männchen sind leicht kenntlich durch 2 chitinöse Platten (Spiculae), die sich zur schmalen Borste verjüngen; sie werden bei der Begattung vorgestülpt und dringen in die Vulva des weiblichen Tieres ein. Die Samenkörperchen, kleine kugelige, protoptosmatische, übrigens ziemlich schwierig erkennbare Gebilde werden in einem sehr langgestreckten

Hoden gebildet, dessen schmaler Ausführungsgang gerade vor dem Spiculae liegt.

Bringt man eine ziemlich konzentrierte Älchenmasse in ein leeres Fläschchen, und rollt dieses, bis sie einen gleichmäfsigen dünnen Belag bildet, so kann man nachher beobachten, wie die anfangs regellosen Bewegungen sich ordnen und schliefslich in gleichmäfsigen Wellenlinien verlaufen. Weiterhin sieht man aber auch sternenförmig gezackte leere Stellen sich bilden, die frei von Älchen sind.

Verteilt man Essigälchen in verflüssigter Gelatine, und läfst diese zwischen Objektivträger und Deckgläschen erstarren, so werden jene keineswegs festgebannt an derselben Stelle verbleiben; sie bewegen sich nach wie vor weiter, wenn auch nicht mehr so lebhaft wie in der leicht beweglichen Flüfsigkeit. Es scheint fast, als würde die Gelatine nicht blofs zur Seite gedrückt, sondern auch verflüssigt.

Im nachfolgenden bringe ich einige Angaben von W. Henneberg aus einer längeren interessanten Abhandlung „Zur Biologie des Essigaales", die in der Zeitschrift „Die deutsche Essigindustrie" 1899 veröffentlicht und auch als Sonderabdruck bei Paul Parey, Berlin, erschienen ist.

Die Vermehrung ist eine sehr grofse; bis 45 Junge wurden bei einem Weibchen beobachtet. Die Jungen werden in der Eihaut geboren und erlangen in ca. 4 Wochen die Geschlechtsreife, können jedoch fast 300 Tage alt werden; bei unzureichender Nahrung bleiben sie klein und geschlechtslos.

Durch ihre Bewegungen hemmen und stören sie die Bildung der Essighäute in den Weinessigfabriken.

Die Tierchen leben auch in breiartigen Substanzen und in Flüssigkeiten ohne Essigsäure, doch sterben sie sehr bald, wenn Fäulnis eintritt (in der Trubtonne einer Brauerei beobachtete Verf. dieses Buches, dafs die ganze Oberfläche des Trubs eine einzige, wimmelnde Älchenmasse bildete).

Erst bei weniger als 6 % Essigsäure im Essig vermehren sie sich lebhafter; in 13,5 %igem Essig lebten sie höchstens einen Monat. Bei 40—41 ° C. tritt Wärmestarre ein; bei 3 ° Kältestarre. Das Optimum liegt bei 20—29 °. Kurzes Einfrieren schadet ihnen nichts. Geringe Mengen Citronen-, Butter- und Milchsäure werden gut vertragen, anorganische Säuren sind starke Gifte, ebenso wie Natronlauge und Jod. 15 % Alkohol vertragen sie noch gut, bei 20 % fallen sie in einen Betäubungszustand, bevor sie absterben.

Der menschliche Magensaft scheint auf sie keine Einwirkung zu haben, dagegen der alkalisch reagierende Darmsaft. Nach dem Tode der Älchen ist im Leibe derselben oft ein sich mit Jod blaufärbender stärkeartiger Körper nachzuweisen. In reinem Wasser, in Erde können sie

nicht lange leben, auch Trockenheit vertragen sie nicht. Daher können Essigfliegen zu ihrer Weiterverbreitung nur innerhalb der Fabrikräume in Betracht kommen.

Kaltes Lagern des Essigs unter 15° und in vollgefüllten und gespundeten Fässern läfst die Älchen nicht aufkommen, zumal wenn der

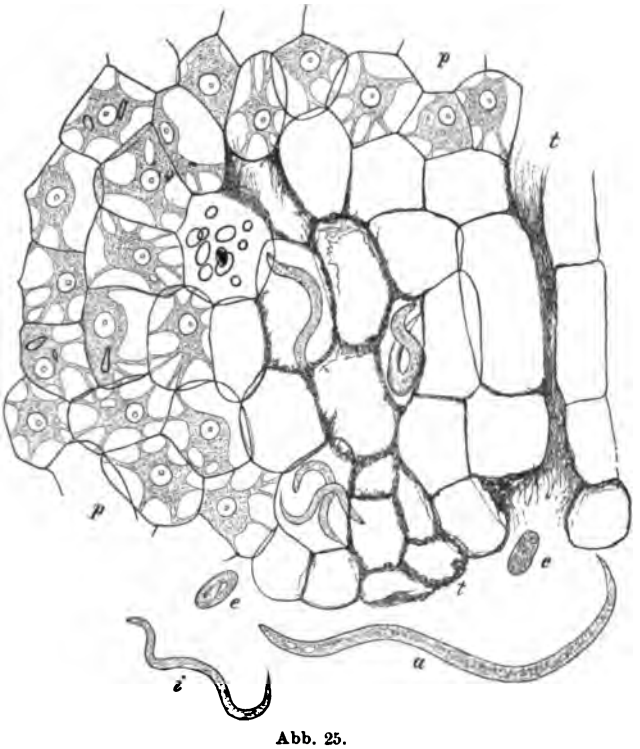


Abb. 25.
Durchschnitt durch ein Nematoden-Nest einer Kartoffel; tt die toten Partien: in den Zellen derselben die eingedrungenen Älchen; bei ee einige herausgefallene Nematoden-Eier; bei i und a junge und alte Älchen. Die das Nematodennest umgebenden lebenden Zellen p bis p haben ihre Stärkekörner ganz verloren, aber ihr Protoplasma vermehrt und den Zellkern vergröfsert. 110fach.
(Aus Franks Kampfbuch.)

Essig über 10% Essigsäure enthält. Ein bequemes Mittel, im Haushalt sie abzutöten, ist in der Erwärmung der betr. Flasche auf ca. 45° C. gegeben.

Von den Essigälchen durchaus verschieden sind die, auf Getreide oder in Kartoffeln oder Rüben parasitisch lebenden Nematoden.

Die Radenkörner oder Gichtkörner des Weizens sind durch Einwanderung und aufserordentliche Vermehrung des „Weizenälchens“ (Tylenchus scandens Schneid.) entstanden; sie sind nur halb so grofs wie normale Körner und fallen durch die gelbfleckige, dicke holzige Schale und die darin eingeschlossene weifsliche, faserig-markige Substanz auf.

Letztere besteht lediglich aus Tausenden von verschlungenen Älchen, von denen ein jedes bis 1 mm lang ist.

Das Stockälchen des Roggens und Hafers (Tylenchus devastatrix) bewohnt wieder ausschliefslich Stengel und Blattorgane der Pflanzen, und die Folge davon ist der eigentümlich stockige Wuchs der befallenen Teile. Der durch den Parasiten ausgeübte Reiz, welcher das abnorme Wachstum erzeugt, pflanzt sich auf den ganzen Trieb fort, auch wenn der letztere nicht überall mit Nematoden besetzt ist. Von anderen Älchen sind diese durch einen Mundstachel ausgezeichnet, durch den die Zellen angebohrt werden können.

Auch in den Kartoffeln kann diese Art sich einnisten und die „Wurmfäule" oder „Nematodenfäule" erzeugen.

Die angebohrten Zellen verlieren den Turgor und bräunen sich, enthalten aber die Stärkekörner noch ziemlich unverändert. Die Erschlaffung der Zellen hat ein Einsinken der Schale im Gefolge. In dem nicht gebräunten nächsten Umkreise um die Nematodennester verlieren häufig die Kartoffelzellen ihr Stärkemehl, zeigen dafür aber ihr Protoplasma, welches im völlig lebenden Zustande sich befindet, auffallend vermehrt und den Zellkern vergröfsert.

§ 11. Blatt- und Schildläuse.

Die Blatt- und Schildläuse sind in mehrfacher Beziehung interessante Objekte für die mikroskopische Beobachtung. Ihre allgemeine Verbreitung draufsen in der Natur macht sie uns leicht zugänglich. Fast jede Pflanze dient der einen oder anderen Art zum Aufenthalt und als Nährboden. In erster Linie sind es die grünen Blätter oder die saftigen Stengel, die sie befallen und ihrer zuckerhaltigen Säfte zu berauben suchen. Die Einrichtungen der dazu benötigten Stech- und Saugorgane sind sehr kompliziert und wegen des aufserordentlichen feinen Baus noch nicht hinlänglich genau erforscht. Jedenfalls weifs man, dafs die Saugborsten, die sich zu dünnen Kapillarröhrchen zusammenschliefsen, tief in das Pflanzengewebe eindringen und in der Mehrzahl der Fälle die Gefäfsbündel aufsuchen, in denen der Säftestrom am stärksten ist. Eine Kapillare von solch kleinem Kaliber, wie es diese Saugröhren besitzen, würde unmöglich im stande sein, die Pflanzengewebe zu durchbohren, wenn nicht besondere Vorkehrungen von dem Insekt getroffen würden, die ein Umbiegen und Einknicken der Röhre verhindern. In einer sehr interessanten Studie über den Honigtau[1]) hat Büsgen gezeigt, dafs von vielen Blattläusen, die aus gröfserer Tiefe im Pflanzen-

[1]) Der Honigtau. Biologische Studien an Pflanzen und Pflanzenläusen. Mit zwei lithographischen Tafeln. 1891. Verlag Gustav Fischer, Jena.

gewebe ihre Nahrung holen, besondere Sekrete ausgeschieden werden, die zu einer mehr oder weniger festen Röhre erstarren, in der dann die Saugborsten vor- und zurückgleiten können. Sie funktionieren innerhalb einer solchen Führung, ähnlich wie der kleine Drahtstift einer Heftmaschine, der, weil er nach der Seite nicht ausbiegen kann, die Papierlagen durchbohren mufs. Dieses Sekret dient aber auch dazu, die Wunden, die das Tier der Pflanze beigebracht hat, zu schliefsen. Andernfalls würden sich die Blätter bald verbluten, und damit auch den Läusen die Existenz untergraben sein.

Wir sind manchmal erstaunt über die Menge von Blattläusen, die wir auf den Blättern und Stengeln dichtgedrängt antreffen, aber noch mehr darüber, dafs die Pflanze nicht sogleich diesem Massenangriff unterliegt. Das scharenweise Auftreten dieser Läuse hängt mit ihrer schnellen Vermehrungsfähigkeit zusammen.

Wenn wir eine Blattlaus oder Schildlaus zerquetschen, dann finden wir nicht selten 40—50 und darüber Eier darin, die in den verschiedensten Entwicklungsstadien sich befinden. Hier bietet sich eine selten schöne Gelegenheit, uns über den Gang der Entwicklung einer Eizelle bis zum fertig ausgebildeten Individuum zu orientieren.

Wir sehen, wie in den noch nicht differenzierten Eiern ein reiches Nährstoffmaterial untergebracht ist; eine grofse Menge stark glänzender Fettkügelchen neben reichlich vorhandenen Plasmamassen.

Dann sehen wir an anderen Eiern, wie allmählich Furchungen auftreten, Augenflecke sich bilden und schliefslich der Kopf und die Beinpaare ihre definitive Gewalt gewinnen. Auch zum Ausschlüpfen reife Individuen finden wir vor, die bereits Bewegung zeigen. Fürwahr, ein einziges Blatt- oder Schildlauspräparat würde wochenlang uns beschäftigen können, wollten wir alles genau studieren.

Den ganzen Sommer über hält die Vermehrung der Blatt- und Schildläuse an; warme, feuchte Witterung ist besonders günstig dafür. Die Sommergenerationen sind ungeschlechtlich erzeugt, die Eier sind, ohne befruchtet worden zu sein, ausgereift. Man spricht hier von Jungfernzeugung (Parthenogenese). Im Herbst erst treten bei den Blattläusen in den ungeschlechtlich erzeugten Generationen (Ammengeneration) Männchen (geflügelt) und Weibchen auf, die sich paaren. Letztere legen dann Eier ab, die befruchtet sind und nach der Überwinterung die Frühjahrsgeneration geben.

Wir haben also bei den Blattläusen solche, welche lebende Junge gebären (vivipare) und solche, welche nur Eier ablegen (ovipare).

Bezüglich der Vermehrungsfähigkeit der Blattläuse hat man ausgerechnet, dafs die Nachkommenschaft von einem Blattlausweibchen bei unbehinderter Vermehrung im Laufe eines Jahres eine Masse geben würde, welche mehr Raum als unsere Erdkugel beanspruchen würde.

Blatt- und Schildläuse sind uns aber hauptsächlich noch aus anderen Gründen interessant, als Erzeuger des sogenannten Honigtaus. Wenn wir in Hopfenplantagen oder auch auf Getreidefeldern uns die Blätter genauer ansehen, finden wir da, wo Blattläuse massenhaft schmarotzen, auch die Blätter stellenweise mit einer Art Glasur bedeckt. Dies ist getrockneter Honigtau — seinem Hauptbestandteil nach Trauben- und Fruchtzucker. Der Honigtau wiederum liefert bei feuchtem Wetter das geeignetste Nährmaterial für die verschiedensten Pilze. Infolgedessen sehen wir, je mehr es zum Herbste geht, die grofse Mehrzahl der Blätter immer dunkler sich färben auf der Oberfläche. Es ist der sogenannte Rufstau entstanden: ein schwarzer Belag aus verschiedenen Pilzen, denen eine grünlich-schwarze Färbung der Zellmembranen eigentümlich ist. Eine derartige schwarze Kruste nimmt aber dem Blatt das zur kräftigen Assimilation nötige Licht weg — schädigt also die Pflanze in ihrem Ertrag. Man kann das leicht durch einen Versuch feststellen. Man behandelt ein mit Rufstauflecken behaftetes Blatt mit Alkohol, bis das Chlorophyll herausgelöst ist, und taucht es dann in Jod-Jodkaliumlösung. Die mit Stärke angefüllten Zellen färben sich dunkelblau bis schwarz; die stärkefreien bleiben hell. Bei dem Rufstaublatt wird also jetzt dort, wo der Rufstau gesessen hat, das Blatt hell bleiben, dort, wo kein schwarzer Belag vorhanden war, wird sich das Blatt jetzt schwärzen. Zu dieser verminderten Assimilation kommt bei den Blättern noch der Verlust des zuckerhaltigen Saftes hinzu, der gar nicht so gering ist. So sammelte Boussingault von 1 Quadratmeter Blattfläche eines Lindenbaumes 22,34 g Honigtau. Die ganze Linde mit ca. 24 000 Blättern hätte somit einen Gesamtertrag von 2—3 kg Honigtau geliefert (Trockensubstanz).

Eine Analyse des letzteren ergab:

Rohrzucker	48,56 %
Invertzucker	28,59 „
Dextrin	22,55 „
	99,70 %

Nach einer weiteren Berechnung hätten diese Honigtaumengen hingereicht, um mindestens 4000 neue Blätter zu bilden. Mitunter ist die Absonderung des Honigtaus durch die Blattläuse so aufserordentlich stark, dafs bei einer günstigen Stellung der Sonne man den feinen Sprühregen schon mit bloſsem Auge wahrnehmen kann. Auch kommt es nicht selten vor, dafs sonst herrliche Alleen mit Linde oder Ahornbäumen kaum zu passieren sind, ohne dafs Kleider und Sonnenschirme davon schmutzig und klebrig werden. Die Bänke unter solchen Bäumen, ebenso wie Trottoirs sehen oft wie mit Glasur überzogen aus.

Nach neueren Beobachtungen soll der Honigtau aus dem After der Tiere herausgespritzt werden, nicht, wie man bisher glaubte, aus den sogenannten Honigröhren oder Honigtrompeten. Diese sollen vielmehr eine schmierige Flüssigkeit ausspritzen, durch welche die Feinde der Tiere, Schlupfwespen oder die Larve des Marienkäfers (Coccinella), abgeschreckt werden sollen.

Wegen der Zucker absondernden Eigenschaft haben sich die Blatt- und Schildläuse aber auch viele Freunde erworben, so vor allem die Ameisen, welche begierig den Honigtau auflecken und die Blattläuse durch sanfte Berührung zu neuer Absonderung reizen.

Da Ameisen gegen manche Pflanzenfeinde eine vorzügliche Schutztruppe sind, könnte man daran denken, dafs das Auftreten von Blattläusen für die Pflanze Vorteil bringe. Im allgemeinen werden die Nachteile hier aber überwiegen. Eine wiederholt gemachte Erfahrung ist es auch, dafs auf Früchten, die mit solchem Zuckerbelag versehen worden sind, sich auch leicht parasitische Pilze ansiedeln, so z. B. die Botrytis cinerea, welche sowohl für die Weintrauben wie für unsere Obstsorten verheerend auftreten kann. In blattlausarmen Jahren soll auch die Gefahr des Schimmels auf dem Obst geringer sein.

Brauereien, die mit offenen Kühlschiffen arbeiten, sollten zur Zeit des Auftretens von Honigtau und dann des Rufstaues recht vorsichtig sein, dafs ihnen an windigen Tagen nicht zu viel von dem trocknen Pilzstaub zufliegt. Näheres siehe unter Dematium pullulans in dem Abschnitt über Schimmelpilze.

Während die Blattläuse auf den Blättern frei herumlaufen, sind die Schildläuse fest an ihren Ort gebannt, nachdem sie sich einmal festgesaugt haben. Eine Folge davon ist, dafs die Honigtautropfen dann immer in derselben Richtung weggespritzt werden und auch an derselben Stelle niederfallen. So kann man z. B. oft an Myrten, die von der Aspidiotus-Schildlaus befallen sind, beobachten, dafs gröfsere Perlen des eingetrockneten klebrigen Zuckers allenthalben an den Blättern und Zweigen hängen.

Die **Aspidiotus-Nehrii-Schildlaus**[1]) interessiert uns aus einem besonderen Grunde. Sie ist nämlich stets von einer eigenartigen Hefe begleitet, die in ihr von Jugend auf parasitisch lebt. Verfasser hat diese Hefe wegen der Ähnlichkeit mit der Apiculatus-Hefe und wegen ihres parasitischen Charakters Saccharomyces apiculatus parasiticus genannt.

Da fast jeder Myrtenstrauch, oder jeder Lorbeer- oder Oleanderbaum unsere Schildlaus birgt, ist sie jederzeit, auch im Winter zu be-

[1]) Von den Schildläusen hat namentlich Aspidiotus perniciosus, die San Jose-Schildlaus, in letzter Zeit viel von sich reden gemacht, indem sie ganze Obstgärten in Amerika verwüstet hat. Von dieser Art kennt man auch Männchen.

schaffen. Aufser auf genannten Pflanzen hat sie Verfasser aber auch noch auf Birnbäumen beobachtet; ferner auf einzelnen Palmen des Frankfurter Palmengartens, so auf Chamaedorea Schiedeana (aus Mexiko) und auf der Bergpalme Ch. Ernesti Augusti (aus Guatemala). Beide Palmen wurden von Ameisen sehr besucht. Hartig hat die parasitische Hefe ferner in den Nonnenraupen angetroffen, in denen sie krankhafte Erscheinungen hervorruft. Darnach scheint unser Aspidiotus Nerii (nach ihrem Vorkommen auf Nerium Oleander so benannt) auch in unseren Wäldern heimisch zu sein, nicht nur in unseren Gewächshäusern. Dafs die Raupen von ihr befallen werden, erklärt sich dann so, dafs von ihnen mit den Blättern eben auch die darauf sitzenden Schildläuse mit verzehrt worden sind. — Den Schildläusen selbst schadet die Hefe offenbar nichts, denn gerade die fettesten Exemplare sind am reichlichsten mit diesen Parasiten behaftet.

Bemerkenswert ist, dafs die Hefe durch die parasitische Lebensweise ganz verlernt hat, aufserhalb des Tierkörpers fortzuleben. Alle Versuche, die Verf. und auch Will (mit dem Hartigschen Material aus den Nonnenraupen) angestellt haben, um sie in den verschiedenen Nährflüssigkeiten weiter zu vermehren, sind fehlgeschlagen.

Mit dem Absterben der alten Schildläuse gehen natürlich auch eine Unmenge von den Hefezellen zu Grunde; es retten sich nur diejenigen Zellen, die Gelegenheit gefunden haben, in ein Schildlausei oder ein noch nicht ausgekrochenes junges Individuum zu gelangen. Da mitunter 60 und mehr Junge aus einer alten Schildlaus hervorgehen, ist diese Gelegenheit genug geboten. Die Infektion erfolgt schon zu einer Zeit, wo das Ei noch im Ovarium liegt und noch wenig differenziert ist. Verf. hat noch keine junge Schildlaus angetroffen, die nicht schon den Parasiten in sich gehabt hätte.

Da die jungen Schildläuse aufserordentlich beweglich sind und auf andere Blätter und Zweige kriechen können, vielleicht auch auf Insekten, die den Honigtau aufsuchen, ist eine Weiterverbreitung auch der Hefe gewährleistet. Mitunter trifft man neben der Hefe noch andere Parasiten in den Schildläusen an. Sowohl Schlupfwespen wie auch gewisse Fliegen legen ihre Eier unter der Schildlaus ab und die auskriechenden Larven zehren dann das Innere des Schildlauskörpers auf. Verf. fand eine gröfsere Anzahl solcher Maden in einer Schildlaus vor. Die nachstehende Abbildung (Abb. 26) diene zur näheren Erläuterung des vorher Gesagten.

§ 12. Milben.

Mit einigen Worten sei noch der Milben Erwähnung gethan, deren verschiedenen Arten wir allenthalben begegnen. So entwickelt sich in den Hopfengärten in trockenen warmen Sommern sehr häufig eine ver-

heerend auftretende Milbe, Tetranychus telarius, die auch rote Spinne oder Milbenspinne genannt wird. Die Blätter, welche sie befällt, verlieren

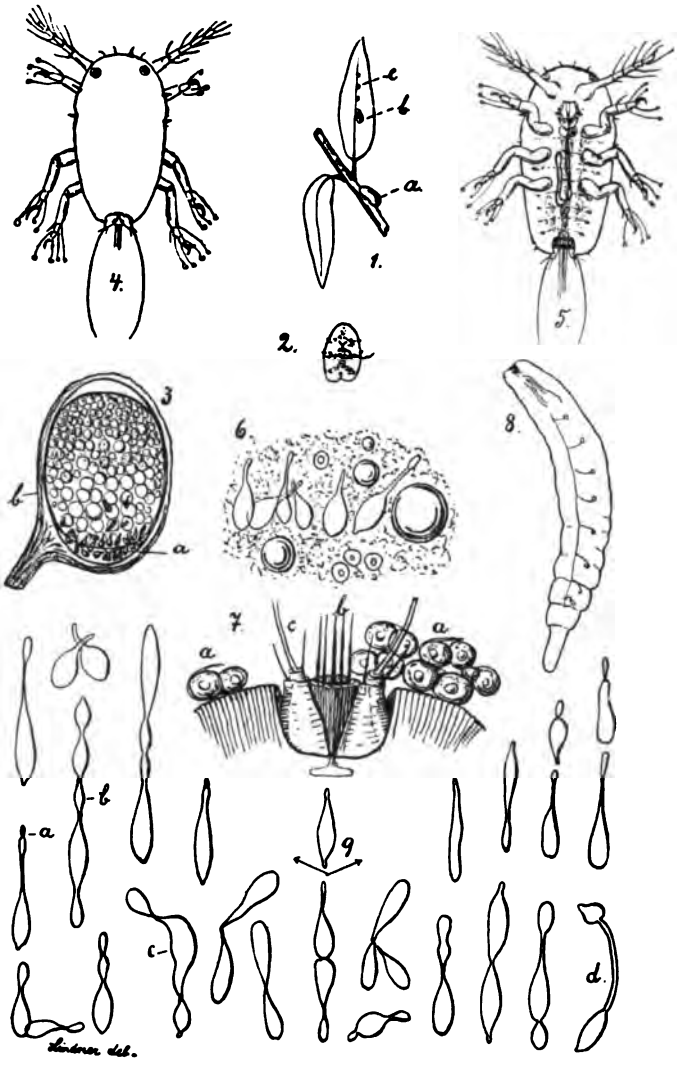


Abb. 26. Die Oleander-Schildlaus, Aspidiotus Nerii und Sacch. apiculatus var. parasiticus.

1 a Eine ältere, b und c jüngere Schildläuse, auf dem Stengel resp. den Blättern eines Myrtenzweiges festsitzend. Nat. Gröfse. — 2 ältere Schildlaus. 4fach vergröfsert. Die rippenförmige Zeichnung des gewölbten Schildes und der auf der Unterseite befindliche spitze Schnabel mit der vorgestülpten Stech- und Saugborste angedeutet. — 3 Eizelle noch in der Hülle (a) des Ovariums (b) liegend. 100fach. Am unteren Pol reichliche Wucherung der Apiculatushefe. — 4 und 5 junge, eben ausgeschlüpfte Schildläuse von der Rücken- und Bauchseite. — In 5 ist die schlingenförmig eingezogene Saugborste zu sehen. 100fach. — 6 Das Plasma einer zerdrückten Schildlaus mit Apiculatuszellen. 100fach. — 7 After und Honigröhren einer jungen Schildlaus. Zahlreiche Pilzsporen haben sich hier angesiedelt. 650fach. — 8 Larve eines unbekannten Parasiten. — 9 Verschiedene Wuchsformen der Apiculatushefe. 1000fach. a Anlegung einer jungen spitzen Tochterzelle. b Sprofsverband. c unregelmäfsige Zellform. d hantelförmige Zellen.

bald ihre lebhaft grüne Farbe, werden blafsrötlich und färben sich schliefslich rotbraun — man spricht dann vom Kupferbrand. Namentlich die Unterseite der Blätter sind am meisten von dem Ungeziefer besetzt. Zwischen den feinen Spinnfäden bemerken wir bald eine Menge heller, durchscheinender Eier von kugelförmiger Gestalt. Die rötlichen Milben werden bis 0,25 mm lang. Sie besitzen ebenfalls Saug- und Stechorgane, mit denen sie die Blätter anbohren und aussaugen.

Im Herbst ziehen sie sich in die Ritzen oder unter die Rinde der ungeschälten Hopfenstangen zurück, um hier zu überwintern.

Durch Anwendung geschälter Hopfenstangen und durch Vernichtung der abgefallenen Blätter, Stengel sucht man der Epidemie für das kommende Jahr vorzubeugen. Zwischenpflanzen von Kartoffeln und Bohnen zwischen Hopfen soll auch ableitend auf die Milben wirken. —

Getrocknete Früchte, besonders Pflaumen, sind oft dicht mit Milben besetzt, die wegen ihrer weifsen Farbe zwischen dem weifsen Zuckerstaub nicht zu erkennen sind (Acarus farinus) (siehe Abb. 29). Andere Milbensorten peinigen unsere Haustiere. Hühner und Tauben sitzen oft voll davon, bei Hunden, Katzen, Pferden und Rindern erzeugen sie die Räude. Die Krätze beim Menschen ist ebenfalls von einer Milbenart hervorgerufen (Sarcoptes scabiei).

Sarcoptes scabiei (Krätzmilbe). Die Weibchen bohren in die menschliche Haut tiefe Gänge, an deren Enden sie sich aufhalten und erzeugen durch ihre Stiche den unter dem Namen Krätze bekannten Hautausschlag. Die ausschlüpfenden Jungen haben mehrere Häutungen zu bestehen; aus den aufgekratzten Stellen kommen sie hervor und können so leicht auf andere Personen übertragen werden, sei es durch Handschlag oder durch Wäsche, Bettzeug, Thürklinken, Treppengeländer u. s. w. Die ausgewachsene Milbe besitzt 4 fünfgliedrige Beinpaare, von denen die beiden vorderen in eine gestielte Haftscheibe auslaufen; dasselbe gilt vom letzten Beinpaar des Männchens.

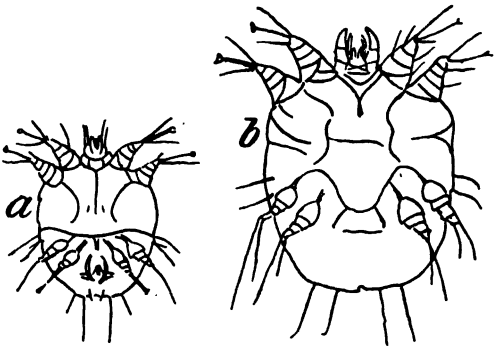


Abb. 27. Krätzmilbe, Sarcoptes scabiei, nach Gudelen. a Männchen. b Weibchen. Beide von der Bauchseite.

Auf den Haustieren leben verschiedene Arten von Krätzmilben, die auch auf den Menschen kurze Zeit übertragen werden können, z. B. Symbiotes equi.

Bekannt ist, dafs namentlich die Personen des Bäckereigewerbes häufiger von der Krätze befallen werden.

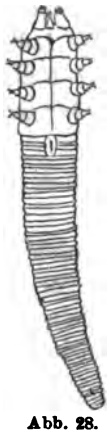


Abb. 28. Demodex folliculorum, Haarbalgmilbe, nach Megnin.

Eine in der Bauart von den bisher besprochenen Milben aufserordentlich abweichende Art ist die Demodes folliculorum, die in den Haarbälgen des Menschen schmarotzert und die Ursache der Mitesser werden kann. Der Körper ist entsprechend den engen Hautporen ganz langgestreckt und schmal. Da die Milbe tief sitzt, ist sie schwer durch Ausdrücken der Mitesser zu entfernen, wohl aber gelangen die Eier und Jungen sehr leicht nach aufsen, von wo sie z. B. durch Abwischen des Gesichts mit den Händen sehr leicht auf andere Personen oder Gegenstände (z. B. die Tische in den Gasthäusern) übertragen werden können.

Diese Milbe ist aufserordentlich schwer im mikroskopischen Präparat der Mitesser zu entdecken und es giebt nicht allzuviel Zoologen und Mediziner, die sie zu Gesicht bekommen haben.

Maischen und Bierwürzen liefern bei der mikroskopischen Untersuchung hin und wieder ebenfalls Bilder von Milben oder einzelnen Teilen derselben. Hier ist ihre Herkunft vom Hopfen oder vom Malz. Namentlich das Malz auf der Tenne wird hin und wieder von einem derartigen Schädling heimgesucht. Wichmann von der Wiener Versuchsstation für Brauerei und Mälzerei hat zuerst auf ein solches Vorkommen aufmerksam gemacht. Nach seinen Mitteilungen ist der Malzschädling eine Milbe aus der Familie der Tyroglyphiden, wahrscheinlich Glyciphagus, von welcher Gattung sich mehrere Arten auf getrockneten Früchten als weifser Belag oder auf Kartoffeln, namentlich auf kranken in ungeheurer Menge vorfinden. Der Leib ist langgestreckt, eiförmig, durch eine Querfurche zwischen dem zweiten und dritten Beinpaare gegliedert und mit langen, borstenartigen Haaren besetzt. Der augenlose Kopf endet in einem konischen Rüssel mit scherenförmigen Kieferfühlern und ist mit einer schildartigen Platte bedeckt. Die Beine, acht an der Zahl, sind fünfgliedrig, ziemlich lang und das Endglied mit einer Kralle versehen, die von dütenförmigen Lappen umgeben ist. Das Endglied des 1. und 2. Beinpaares besitzt überdies Tastkörper, das 3. an allen Gliedern je eine lange Basalborste.

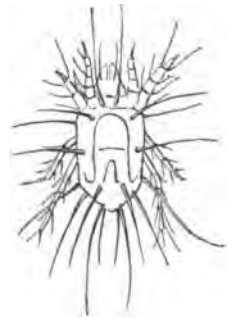


Abb. 29. Zuckermilbe, Tyroglyphus (Acarus farinae).

In Abb. 30 ist eine vom Verf. auf Roggen angetroffene Milbe gezeichnet, deren Haftorgane wie kleine Erlenmeyersche Kölbchen aussehen.

Nach Wichmann hat es die Milbe hauptsächlich auf den Keimling abgesehen und vermehrt sich ausschliefslich in diesem zu einer Zeit, wo die Gerste auf der Tenne auskeimt. Die Tiere dringen wahrscheinlich beim Würzelchen in das Korn ein. Die Vermehrung ist eine aufserordentlich rasche; in jedem Keimling wurden 10 und mehr ausgewachsene Individuen gefunden. Daneben war noch eine 2. Generation vorhanden. Diese wandert jedenfalls später aus und sucht neue Körner auf.

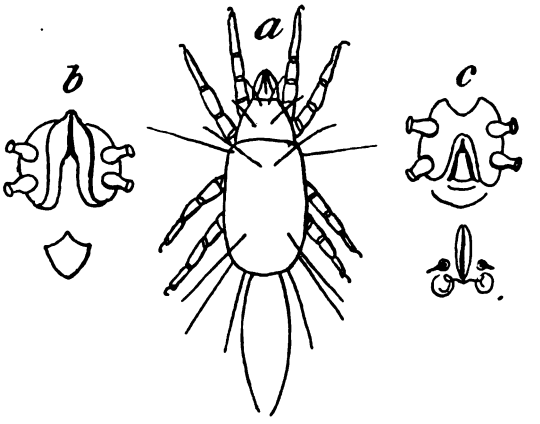


Abb. 30. Getreidemilbe.
a Ansicht von der Rückenseite. b Genitalapparat des Weibchens, c des Männchens; beide mit Haftkolben. Bei b ist unten der After geöffnet, in c geschlossen dargestellt. In c sieht man neben dem After noch zwei Haftgrübchen.

Beim Abdarren des Malzes, auch bei niederer Temperatur, 50° C., werden sowohl die Milben als auch die Eier vollständig getötet.

In dem Malz findet man alsdann nur noch ein feines Pulver an der Stelle, wo der Keimling liegt, vor, welches aufser den Milbenleichen noch die Eier und abgeworfenen Bälge, sowie die Exkremente enthält.

Wichmann hat Malze getroffen, bei denen nur 1—2 % der Körner milbenfrei waren. Er hat dann auch gezeigt, dafs dieses feine Pulver dem Malz und auch den davon hergestellten Maischen und Würzen einen unangenehmen Geruch erteilt, selbst dann, wenn das Malz sonst bester Qualität war.

Essigmilben. Eine für die mikroskopische Beobachtung aufserordentlich dankbare Milbe ist die auf den Buchenholzspänen der Essigständer häufig anzutreffende Art, welche dem bloſsen Auge als kleine mattglänzende Perle erscheint. Der Inhalt der Milbe läfst sich durch leichten Druck auf das Deckgläschen sehr leicht entfernen, und es bleiben die chitinöse Leibeswand und die Beinpaare zurück, die jetzt sehr deutlich im einzelnen studiert werden können. Besonders lehrreich ist die Betrachtung der noch minutenlang andauernden Muskelkontraktionen in den Beinen und die dadurch bewirkte Bewegung der Fufskralle. Der Muskel ist an der letzteren befestigt wie die Schnur an einem Klingelzug. Die nachstehenden Bilder machen eine weitere Erläuterung überflüssig. Eine andere sinnreiche Einrichtung sind die Haftgrübchen, welche die Genitalapparate umgeben und welche bei der Begattung in Wirksamkeit treten. Die Männchen haben übrigens noch zwei besondere Haft-

grübchen neben dem After. Letzterer ist ein langer Spalt, der sich bei dem Entleeren der grofsen Kotballen weit öffnet und dann einen wappenschildähnlichen Umrifs zeigt. Im durchfallenden Licht erscheinen die Kotballen schwarz, im auffallenden wie die Eier hell.

Auch auf getrockneter Hefe stellte sich in unserem Laboratorium häufig eine Milbe ein, die in den Blechbüchsen die ganzen Wandungen

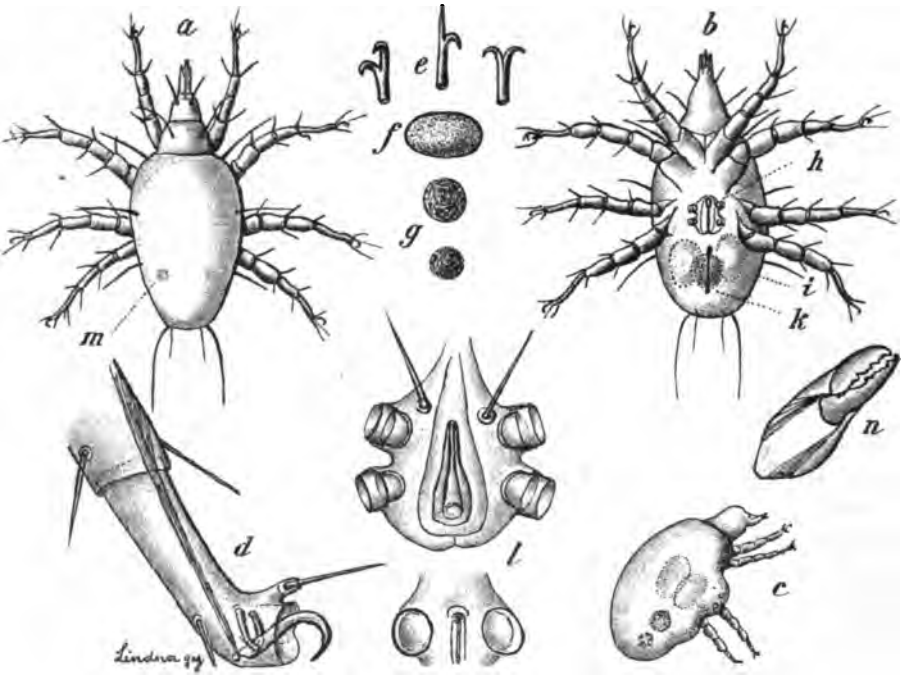


Abb. 31. Essigmilbe.
a Weibchen von oben gesehen; m grünliche Tröpfchen unter der Haut. b Bauchseite; h Genitalapparat mit vier Haftgruben; k After, dahinter ein dunkler Kotballen sichtbar, rechts und links davon zwei Eier. c Weibchen von der Seite gesehen, mit zwei Kotballen und zwei grofsen Eiern im Innern. d Letztes Glied eines Beines mit dem Klingelzugapparat an der Kralle. e Verschiedene Krallenformen an den vorderen Beinpaaren. f Eizelle. g Kotballen. l Bauchseite eines Männchens, vier Haftgruben neben dem Penis und zwei Haftgruben neben dem After. n Krebsscherenähnliches Organ.

mit ihren Exkrementen staubartig bedeckte. Merkwürdig war der Geruch, der sich hier bemerklich machte: er erinnerte an frischen Rahm.

Sehr reich an Milben sind oft auch unsaubere Bierfilze in den Wirtschaften; beim Spülen der unten meist ausgehöhlten Biergläser kommen hier jedenfalls öfter Milben mit ins Spülwasser und somit auch in das Glas.

§ 13. Fliegen.

Die Essigfliegen. Es sind besonders zwei Arten bei uns bekannt, eine kleine mit grofsen roten Augen, Drosophila fenestrarum,

und eine grofse, D. funebris, von dunklerer Färbung. Die erstere ist die bei weitem häufigste; sie kommt fast in jeder Essigfabrik vor, weiter aber auch in Fruchtpressereien, Weinkellern, Obstläden, auf den Höfen von Brennereien, Brauereien und Prefshefefabriken, wo Würze oder Bier oder Schlempe oder Treberwasser verspritzt wird und in Gährung übergeht. Die Essigfliege kann im Laboratorium geradezu als Reagens auf Essigsäure, Essigäther und Alkohol dienen, indem sie fast augenblicklich herbeigeflogen kommt, wenn solche Flüssigkeiten offen hingestellt werden. Auch Verdünnungen derselben, die auf unsere Geruchsnerven nicht mehr wirken, werden von den Essigfliegen gerochen.

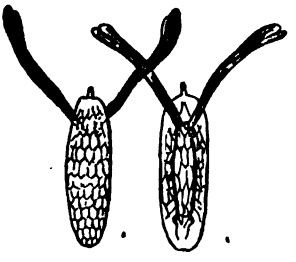


Abb. 32.
Eier der kleinen Essigfliege, Drosophila fenestrarum, mit zwei Anhängseln.

In Laboratorien, in denen viel mit Pasteurschen Kolben gearbeitet wird, mufs man stets das gebogene Rohr derselben mit Watte oder Asbest verstopfen, um dem Eindringen dieser kleinen Fliegen und damit der Infektion vorzubeugen. Sie verschleppen in erster Linie die auf der Oberfläche von Bier u. s. w. wachsenden Mikroben, z. B. Kahmhefe- und Essigsäurebakterien, vielleicht auch Essigälchen.

Das Fliegenweibchen legt nach und nach an 50 Eier, die sofort auskriechen. Nach 14 Tagen bereits verpuppen sich die Maden und nach weiteren 10 Tagen kriechen wieder die jungen Fliegen aus. Die Vermehrung ist eine sehr starke. Besonders zusagend für Eiablage und schnelle Entwicklung ist nach Henneberg milchsaure, vergohrene dicke Kornmaische.

Die Eier der kleinen Essigfliege besitzen zwei, die der grofsen vier fadenförmige Anhängsel. Die Eihaut ist mit polygonalen Zeichnungen versehen.

Die Dasselfliegen[1]) (Oestriden). Die Oestriden bilden eine Gruppe der zweiflügeligen Insekten, der Fliegen oder Dipterea, und sind unter dem Namen Dasselfliegen, Dasselmücken, Bremsen, Engerlingfliegen, Biesfliegen, Biesmandl, ihre Larven unter der Bezeichnung Engerlinge, Dassel, Bieswurm bekannt.

Diese Fliegen sind aus dem Grunde interessant, weil ihre Larven auch Säugetiere, insbesondere auch die Pferde belästigen.

Die Larven leben entweder im Magen und Darmtraktus oder in Nase, Stirnhöhle, Schlund oder unter der Haut, hier die Dasselbeulen erzeugend.

Als Schmarotzer des Pferdes sind mit Sicherheit nachgewiesen: Gastrophilus equi Fab., inermis Brauer, pecorum Fabr., haemorrhoidalis L.,

[1]) Verfasser verdankt die hier gemachten Angaben Herrn Arminius Bau.

veterinus Clark = nasalis L. und Rhinoestrus purpureus Brauer. Sehr selten verirrt sich auch einmal eine Hautöstride, Hypoderma bovis Deg., die gewöhnliche Biesfliege der Rinder, auf ein Pferd und erzeugt hier die sog. Dasselbeulen.

Die Gastrophilus-Arten leben im Larvenzustande im Magen und Darm. Die reife weibliche Fliege sucht besonders die auf der Weide befindlichen Pferde auf, um ihre Eier abzulegen; sie umschwärmt das Opfer ziemlich langsam; hat sie den Ort gefunden, wo sie das Ei absetzen will, so hält sie daselbst wenige Sekunden an, entfernt sich dann plötzlich und klebt das Ei, mit dem dickeren Ende am Haar abwärts gerichtet, an. Sie fliegt ein kurzes Stück fort, kehrt bald zurück und befestigt ein zweites Ei. Dieser Vorgang wiederholt sich fortgesetzt, bis oft ein einziges Pferd mit 400—500, ja noch mehr Eiern beschenkt ist.

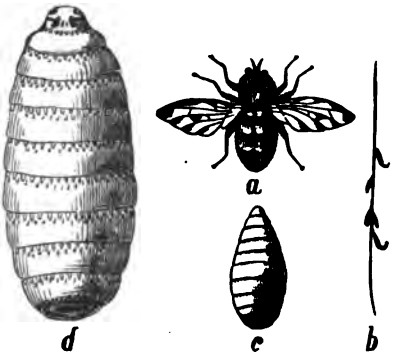


Abb. 33. a Pferdebremse. b deren Eier an einem Pferdehaar. c Larve. d Puppe.

Die Eier halten an den Haaren aufserordentlich fest, so dafs sich durch Striegeln und Putzen nur der kleinere Teil entfernen läfst. Gast. equi und pecorum bevorzugen die Brust des Pferdes zur Eiablage, oder die Schulterblätter bis herab zum Ende des Unterschenkels, Gastr. haemorrhoidalis sucht besonders die Lippen und Lippenhaare auf. Für die Pferde soll dies sehr quälend sein, sie werden unruhig und oft wild.

Die Eier sind $1^1/_4$—$1^1/_2$ mm lang, sehr schlank oval oder zusammengedrückt kegelförmig, entweder weifslich-gelb (Gastr. equi, veterinus) oder schwarz (Gastr. pecorum haemorrhoidalis).

Die durch das Lecken des Pferdes in den Magen gelangten jungen Larven haken sich in der vorderen Partie des Darmes fest und ernähren sich von den Säften der Darmschleimhaut. Ihre Entwicklung dauert meist etwa 9 Monate. Die bis in eine Tiefe von 2 mm korrodierten Stellen der Magenwand gehen natürlich für die Ernährung verloren und kann so eine starke Ernährungsstörung und Schwächung des Pferdes eintreten. Gewöhnlich ist die Grube nur so tief, dafs die Larve den ersten Kopfring hineinstecken kann, aber in manchen Fällen drängen sich die Larven tiefer ins Gewebe resp. in das entstandene Geschwür ein. In solchen Eiterbeulen geht zwar die Larve zu Grunde, jedoch bleibt ihre Chitinhaut ein beständiges Reizmittel für weitere Eiterung. Frifst die Larve aber zufällig ein Blutgefäfs an, dann tritt oft eine Verblutung ein mit tödlichem Ausgang. Wird die Magenwand ganz durch-

bohrt, dann tritt eine stets tödliche Bauchfellentzündung ein. Bei einem Hunde, der tollwutverdächtig war, wurden nach der Tötung drei Gastrophilus-Larven im Magen gefunden. Auch beim Menschen sind in zwei sichergestellten Fällen Gastrophilus-Larven gefunden worden.

Ein Pferd, von dem Bau über 300 Larven sammelte, konnte nur den halben Tagesdienst leisten; es war allerdings erst frisch angekauft und noch nicht für den schweren Brauereidienst trainiert.

Die ausgereiften Larven werden mit den Exkrementen ausgestofsen, bleiben aber oft am Schliefsmuskel des Afters noch einige Tage hängen (Gastr. haemorrhoidalis, pecorum). Die Larven gehen meist nur in den frühen Morgenstunden ab.

Die reife Larve ist je nach den Arten und Geschlechtern (die weiblichen sind stets gröfser) 10—20 mm lang, das Kopfende ist das schmälere. Die einzelnen Leibesringe sind mit Dornenkränzen besetzt, deren Anordnung verschieden ist und bereits in der Larve die zugehörige Art erkennen läfst.

Gastr. equi und veterinus haben bleich-gelbe oder gelblich-blafsfleischfarbige, Gastr. haemorrhoidalis ziemlich dunkelgrüne, Gastr. pecorum hell-blutrote Larven. — Die Larve kriecht in die Erde oder Stallstreu, um sich zu verpuppen. Die Puppe ist schwarz, länglich-oval und wird Tonne genannt. Mit dem Dünger kommt sie wieder auf den Acker.

Die Puppenruhe dauert bei 25° C. 22—24 Tage, wobei eine Gewichtsverminderung von 9—24% eintreten kann. Nach dem Ausschlüpfen aus der Puppe sammeln sich die verschiedenen Geschlechter zur Mittagszeit an hochgelegenen Punkten zur Paarung. Nach der Begattung suchen die Weibchen die Pferde auf zur Eiablage. Die ständig in einer gröfseren Stadt gehaltenen Pferde werden seltener heimgesucht als die auf der Weide befindlichen. Die im Juli bis Ende September weidenden Tiere sind am meisten gefährdet, da die Mehrzahl der Larven hauptsächlich von Juni bis August abgehen.

Die Existenz der Nasenbremse (Rhinoestrus purpureus) ist erst seit 1886 sichergestellt. Die Larven suchte man früher dadurch aus der Nase zu entfernen, dafs man Niefspulver anwendete. Die Hautbremse kommt auf Pferden nur sehr selten vor, ihr Wirt ist hauptsächlich das Rind. Bemerkt man die Dasselbeulen, so kann man die Larven, falls sie schon eine genügend grofse Öffnung in der Haut gemacht haben, bequem herausdrücken. Haben die Larven erst Dasselbeulen erzeugt, so machen sie durch Verletzung der Haut das Fell minderwertig; nach dem Abgang der Larven kann jedoch der Schaden wieder repariert werden. Bei zahlreichen Dasselbeulen magert das Tier sichtlich ab und es entstehen oft Eiterungen. Die reifen Larven sind bedeutend gröfser als die der Pferdebremsen, bis 28 mm lang und 15 mm breit; erst gelblich-weifs, werden sie später ganz schwarz. Die Larve kriecht in

die Erde und verpuppt sich dort; nach 26—30 Tagen schlüpft die Fliege aus. Die Sammelorte sind für diese nicht die hochgelegenen Stellen, sondern tiefliegende, besonders erwärmte Stellen, so Thalsenkungen, Wege an einem Bach oder Flufs, besonders an der engsten Stelle, wo die Hitze am gröfsten ist oder wo durch eine Mauer oder einen Abhang die Sonnenstrahlen reflektiert werden.

Da noch manche Lücken in unseren Kenntnissen der besprochenen Schädlinge bestehen, können sich Praktiker durch Einsendung von diesbezüglichem Beobachtungsmaterial oder Mitteilungen ihrer Erfahrungen sehr verdient machen [1]).

§ 14. Die Fauna unserer Gersten- und Malzböden.

Es ist für den Gärungspraktiker unumgänglich notwendig, dafs er auch in diesem Kapitel etwas Bescheid weifs; sind doch die Schädigungen, welche z. B. der Kornkäfer und die Kornmotte anrichten, oft ganz bedeutende. Was uns besonders bei der Mehrzahl dieser Tiere auffällt, ist ihre Bedürfnislosigkeit gegenüber flüssiger Nahrung. Selbst in ziemlich trockenem Malz und Getreide können sie monate- und jahrelang hausen, ohne dafs ihnen auch nur ein Tropfen Wasser zur Verfügung steht, und dabei sind ihre Larven so fett und saftig, wie die Maden, die wir in einem Apfel oder einer Pflaume antreffen. Gerade die Larven richten am meisten Schaden an. Bei der Kornmotte ist die Motte selbst völlig unschädlich; sie lebt ja in diesem Zustand eigentlich nur den Zwecken der Begattung und des Eierablegens. Der Kornkäfer jedoch bohrt beständig in dem Mehlkörper der Getreidekörner mit seinem Bohrrüssel.

Wir wollen uns mit den beiden erwähnten Arten etwas genauer beschäftigen, da sie am häufigsten vorkommen und in betreff der Schädlichkeit obenanstehen.

Der Kornkäfer oder Kornrüfsler, Calandra (auch Sitophilus) granaria *L.*, auch einfach Krebs genannt, wird bis 4 mm lang und 1 mm breit; von Farbe anfänglich rotbraun, wird er später immer dunkler bis schwarz. Der Vorderkopf verlängert sich in Form eines schlanken Rüssels, der an der Spitze die kleinen Bohrwerkzeuge trägt. Der kleine Kopf trägt unmittelbar vor den Augen an der Wurzel des Rüssels eingefügt knieförmig umgebogene Fühler mit sechsgliedriger, geknopfter Geifsel von fast gleicher Länge wie der Schaft. Der schwach gebogene Rüssel, wie der Halsschild und die Flügeldecken sind mit kleinen Vertiefungen verziert. Die Flügel sind verkümmert, daher ist auch ein Fliegen unmöglich. Nur der nah verwandte, etwas kleinere Reisrüfsler,

---

[1]) Die Artbeschreibung findet man in Schiner, Fauna austriaca Diptera, I. Bd., Wien 1861, sowie in der Monographie der Oestriden von Brauer, Wien 1863.

der sich in letzter Zeit auch schon auf unseren Getreideböden öfters einstellt, Calandra oryzae, hat entwickelte Flügel und zum Unterschiede von C. granaria auf der Flügeldecke je zwei gelbrote Punkte. Eine dritte Art, C. linearis, die bei uns sehr selten ist, hat auch solche.

Die Larve erscheint im jüngsten Zustande als ein stecknadelkopfgroſser, kugelig gekrümmter, weiſser Körper (nur die Mundteile sind bräunlich gefärbt) mit starken Querfalten. Fuſspaare sind nicht ausgebildet. Die ausgewachsene Larve wird gegen 3 mm lang.

Die Puppe ist schlank, weiſs und erst später von bräunlicher Farbe. Die Schenkel und Schienen der Vorder- und Mittelbeine liegen über den Flügeldecken, die Hinterbeine ragen neben den Spitzen der Flügeldecken etwas nach auſsen hervor. Der Rüssel ist deutlich erkennbar. Länge bis 4 mm.

Der Kornkäfer besitzt ein auſserordentlich zähes Leben und eine ebensolche Gefräſsigkeit. Nur Hunger thut ihm weh und ein dreiwöchentliches Fasten richtet ihn nach Schiemenz unfehlbar zu Grunde.

Abb. 34. Der schwarze Kornkäfer (Calandra resp. Sitophilus granaria). Links Puppe, gleichwie der in der Mitte abgebildete Käfer stark vergröſsert; rechts Larve und Käfer an Gerstenkörnern kaum vergröſsert.

Die Paarung findet das ganze Jahr hindurch statt, vorausgesetzt, daſs er nicht der Winterkälte ausgesetzt ist. Im Getreide bevorzugt er die Stellen, die wärmer sind. Bei der Wahl zwischen Gerste und Malz giebt er letzterem den Vorzug, da der Mehlkörper hier lockerer ist.

Auf den Getreideböden verkriecht er sich im Herbst in die Fugen und Ritzen resp. auch in die in den Bodenritzen eingeklemmten Getreidekörner. Im Frühjahr kommt er wieder hervor, und das Fortpflanzungsgeschäft fängt an. Wie alle Rüsselkäfer bohrt das befruchtete Weibchen gewöhnlich an der zartesten Stelle, da wo der Keimling liegt, mit dem Rüssel ein kleines Loch, wendet sich um und legt in die Vertiefung mit seiner am Hinterleibe befindlichen Legeröhre 1, seltener 2, dann und wann sogar 3 Eier, die ca. 0,5 mm lang sind. Die Larve kommt nach 10—12 Tagen aus und bohrt sich weiter in das Korn hinein, bis sie es ganz oder beinah ganz aufgefressen hat und sich verpuppt, was nach etwa 4 Wochen eintritt. Die Puppe entwickelt sich dann innerhalb 10 Tagen zum vollkommenen Kerf. Der Käfer bohrt in der Nähe der Spitze oder des Keimlings ein 1 mm weites Loch und verläſst das Korn, um gelegentlich darin wieder Schutz zu suchen.

Ungefähr Anfang Juli ist die Entwicklung des Eies zum geschlechtsreifen Käfer vollendet; diese Generation erzeugt noch in demselben Jahr eine zweite, welche Ende September oder Anfang Oktober ihre Entwicklung beendet hat und dann überwintert.

Die Frage, ob der Kornkäfer an neues Getreide geht, läfst sich nur von Fall zu Fall beantworten.

Die in unseren Gegenden Mitte Juli geerntete Gerste wird kaum vor Anfang September lagerreif, und vorher dürften kaum Eier darin abgelgt werden, auch nicht von der zweiten Generation der Käfer, die schon Anfang Juli erscheint. Eine Schädigung der lagerreifen Gerste durch ausgebildete Käfer wird indessen auch keine grofsen Dimensionen annehmen können, da diese bereits im Oktober, spätestens Anfang November, ihr Winterquartier beziehen. Im Frühjahr dagegen, von April an, beginnt die Vermehrung der Käfer und die Hauptschädigung des Getreides. Das Mischen von alter, infizierter Gerste mit frischer kann grofses Unheil anstiften.

Einen vom Kornkäfer heimgesuchten Speicher sollte man thunlichst mindestens 1 Monat lang nicht mehr benutzen, inzwischen aber ihn gründlich reinigen, Ritzen und Fugen auskratzen oder mit Petroleum bestreichen, um dem Schädling für den Winter keinen Unterschlupf zu gewähren. Wo eine Räumung des Speichers nicht angängig, streut man vielfach rings um die Getreidehaufen völlig trockenen Chlorkalk und erneuert denselben nach je einer Woche 3—4 mal. Saatgetreide, aber auch nur solches, kann direkt mit einer geringen Menge Chlorkalk vermischt werden. Schiemenz empfiehlt auch das Vermischen und Bedecken des Getreides mit trocknem Sand. Innerhalb 3—4 Wochen gehen dabei die Käfer zu Grunde.

Henneberg macht den Vorschlag, Sperlinge in den Speicher zu lassen, da diese den Käfern gegenüber dem Getreide als Nahrung den Vorzug geben. Auch tüchtiges Lüften und Umschaufeln des Getreides erschwert den Käfern das Leben. Man pflegt auch feuchte Lappen, Decken, Späne auf das Getreide zu legen und in diesen die Käfer einzufangen. Auch Schwefelkohlenstoff ist sehr wirksam. Man schüttet das Getreide in ein Fass und giebt etwas Schwefelkohlenstoff hinein. Nach 2 Stunden ist der Käfer hierbei abgetötet.

Herr Dr. Hoffmann, Vorsteher des Versuchs-Kornhauses, hat mir mitgeteilt, dafs im Rieselspeicher sich das Ungeziefer nicht hält, weil es sowohl die Lüftung als auch die Bewegung des Getreides nicht vertragen kann. Diesbezügliche Erfahrungen sind auch vom Direktor der Königl. Proviantämter in Berlin gemacht worden.

Stark infiziertes Getreide bekommt von den Exkrementen, die als lockeres Pulver im Korn liegen, einen unangenehmen Geruch, der auch

beim Maischen nicht ganz verschwinden dürfte. Wirft man von dem Käfer stark besetzte Körner in Wasser, so schwimmen diese meistens auf der Oberfläche. Von den untersinkenden Körnern kann das eine oder andere aber auch eine kleine Made beherbergen. Die Hohlräume sind nur nicht grofs genug geworden, um das Korn so leicht zu machen.

Über die Vermehrungsgeschwindigkeit sind folgende Angaben gemacht worden. Ein Weibchen soll bis 150 Eier legen, und von einem einzigen Paar sollen im Laufe eines Jahres 6—10000, ja bis 20000 Nachkommen erzeugt werden können. Nach einzelnen Angaben soll ein Weibchen den ganzen Sommer über an jedem Tag ein Ei legen.

Aufser Gerste und Malz wird auch Roggen, Weizen, Spelz, Hafer, Mais, Reis, Hirse und Buchweizen von dem Käfer befallen. Besonders

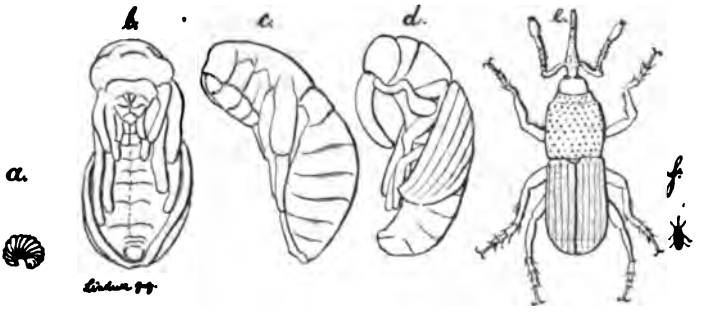


Abb. 35. Verschiedene Entwicklungsstadien des schwarzen Kornkäfers.
a Larve. b—d Puppenstadien; b Ansicht von der Bauchseite; c und d Seitenansicht.
e fertiger Käfer.

stark soll häufig der aus Rufsland importierte Roggen von dem Käfer besetzt sein (bis 25 % der Körner wurden infiziert gefunden).

In den von dem Käfer angebohrten Körnern siedelt sich auch die Mehlmilbe leicht an, ist doch Mehlstaub reichlich genug vorhanden. Besieht man den Staub, den vom Kornkäfer befallenes Getreide liefert, so findet man unter dem Mikroskop hauptsächlich die cylindrisch geformten Exkremente vor, die namentlich bei auffallemdem Licht weifse oder gelbliche Färbung zeigen, je nachdem die Nahrung aus dem Mehlkörper oder aus der Kleberschicht entnommen war. Die gelblichen Stücke sind meist beiderseits zugespitzt; auch bei Zusatz von Jod behalten sie eine gelbe Farbe, während die übrigen, nicht so konsistenten, mehr brüchigen Kotmassen wegen ihres aufserordentlichen Stärkereichtums (die Stärke also nicht verdaut!) ganz schwarz erscheinen.

Die Breite der Kotstücke ist durchgängig ziemlich gleich, ca. 60 μ. Die Länge variiert sehr und es kommen solche bis 400 μ vor. An der Form der Kotstücke kann man sehr gut unterscheiden, ob die Körner

von den Larven des Kornkäfers oder den Raupen der Kornmotte befallen sind. Die Kotstücke der Mottenraupe sind beträchtlich breiter, bis 3 mal so breit, aber nicht entsprechend lang; sie haben oft das Aussehen einer gestielten Traube und sind untereinander häufig durch feine Gespinstfasern verbunden.

Von Interesse ist auch noch das Verhalten des Kornkäfers zum Licht. Während er den Wärmestrahlen entgegen geht, wandert er bei einseitig einfallendem Licht in der Richtung des Lichtstrahls fort. Er ist negativ heliotrop.

Sperren wir eine grösere Menge Käfer in ein cylindrisches Gefäfs und nähern wir uns dem Fenster, so schwenken sämtliche Käfer um und wandern auf die dem Fenster abgelegene Stelle des Gefäfses zu. Kehren wir nun die hintere Stelle nach vorn, so tritt wiederum ein Frontwechsel bei den Käfern ein. —

Als bestes Vertilgungsmittel wird das langsame Abdarren des Getreides auf Temperaturen, die die Keimfähigkeit nicht zerstören, ca. 50° C., angegeben. Weitere Einzelheiten sehe man bei Schiemenz, Wochenschrift für Brauerei 1897 Seite 89 u. ff. nach.

Einen natürlichen Feind besitzt der Kornkäfer in einer kleinen Schlupfwespe. Verfasser beobachtete sie häufig auf Getreideböden, wo sie an den Säcken und auch an den Fensterscheiben leicht zu finden ist. Sie ist ein kleines, flinkes Tierchen, welches zwar seine 4 Flügel hat, aber doch nur zu einem flohähnlichen Hüpfen sie gebraucht. Die Wespe bewegt sich aufserordentlich geschickt auch zwischen den Körnern, indem sie dieselben emsig mit ihren Fühlern betastet und dieselben event. ansticht. Die Löcher sind glatt und rund und von dem Durchmesser eines Stecknadelstiches. Wird sie unsanft berührt, so hüpft sie fort oder zieht die Beine an und stellt sich tot, wie der Kornkäfer, und läfst sich dann ruhig mit den Körnern hin- und herrollen, wie es alle Getreideparasiten machen. Sie sticht die Käferlarven jeden Alters an und legt darin ihre Eier ab, die dann zu kleinen Larven werden; man findet in kleinen Käferlarven oft grofse Wespenlarven und umgekehrt. Die

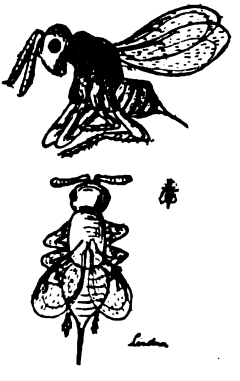


Abb. 36. Schlupfwespe, Pteromalus Calandrae Howard, welche in die Larven des Kornkäfers ihre Eier ablegt.

Abb 37. Triboleum ferrugineum.

Wespenlarve frifst die Käferlarve resp. Puppe leer und schlüpft dann aus, um sich in demselben Korn neben der abgestorbenen Käferlarve zu verpuppen.

Tribolium ferrugineum ist ein langgestreckter, gleich breiter, ziemlich flach gewölbter Käfer von 3—5 mm Länge, 1—1,5 mm Breite und rötlich gelbbrauner oder kastanienbrauner, mattglänzender Färbung. Der Kopf ist bis zu den ziemlich grofsen, schwarzen Augen in das Halsschild eingezogen. Fühler 11gliedrig, die 3 letzten Glieder besonders stark entwickelt. Flügeldecken von gleicher Breite wie das Halsschild, etwa doppelt so lang als breit.

Die Larve ist dem Mehlwurm ähnlich, jedoch nur etwa 7 mm lang. Der Kopf trägt sehr kurze 4gliedrige Fühler. Der letzte Leibesring ist sehr kurz und am Ende mit 2 rostfarbenen, stark nach oben gebogenen Dornen bewehrt.

Die Puppe ist ca. 3 mm lang, zuerst rostfarben, dann dunkler.

Die Verwandlung der Larve in die Puppe und den Käfer vollzieht sich ungemein schnell. Man hat bewegliche Larven am folgenden Tage als Puppe und schon nach weiteren 1½ Tagen als Käfer beobachtet.

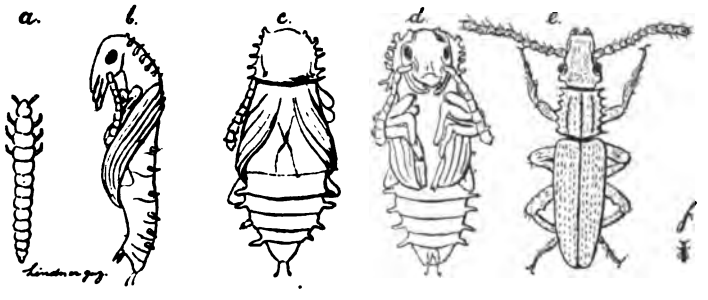


Abb. 88. Entwicklung des Getreideschmalkäfers, Silvanus frumentarius.
a Larve. b—d Puppe von der Seite, von oben und unten gesehen. e Ausgebildeter Käfer.
f Derselbe in natürl. Gröfse.

Jedenfalls mit Mais, den er namentlich in Amerika häufig befällt und verwüstet, eingeschleppt, hat er sich namentlich in Mühlen und Mehlmagazinen eingenistet; aber auch auf alter Gerste hat ihn Verfasser zahlreich vorgefunden neben dem Kornkäfer und der Kornmotte.

Er hat wie der erstere die Gepflogenheit, bei der leisesten Berührung oder Erschütterung sich tot zu stellen, um später, wenn die Gefahr vorüber zu sein scheint, so schnell wie möglich ängstlich davon zu trippeln. An Getreidesäcken verbirgt er sich gern in den dunklen Falten des Bundes. —

Der Getreideschmalkäfer, Silvanus frumentarius, kommt ebenfalls in Gesellschaft der vorher genannten häufig vor. Aus einer Malz-

fabrik erhielt ihn jedoch Verfasser einmal in fast absoluter Reinkultur zugesandt. Der Käfer ist ca. 3 mm lang; besonders charakteristisch ist das zackig geränderte Halsschild. Die keuligen Fühler sind 11 gliedrig.

Die Larve ist 3 mm lang, walzenförmig; die Puppe hat ein bizarres Aussehen infolge der seitlichen Zacken.

Käfer und Larven leben in aufgespeichertem Weizen, Roggen, Gerste, Mais und Reis, auch in Kleie sowie in getrockneten Früchten. Besonders schädlich sind die Larven.

Die Kornmotte, Tinea granella, ist ein kleiner, unserer Kleidermotte sehr ähnlicher Nachtfalter, der sich tagsüber ziemlich ruhig auf den Getreideböden verhält und deshalb selbst von Leuten, die tagaus, tagein dort beschäftigt sind, häufig nicht einmal wahrgenommen wird. Dies hat mit seinen Grund in der gleichen Färbung und Gestaltung mit den Getreidekörnern, auf denen sie sich niederläfst. Gegen Abend beginnt sie erst lebhaft zu werden und umherzufliegen, also zu einer Zeit, wo auf den Getreidespeichern gewöhnlich nicht gearbeitet wird.

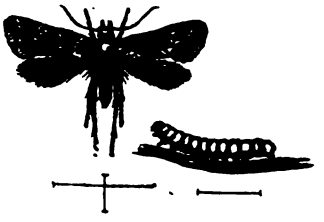


Abb. 39. Kornmotte.

Wo Getreide in Säcken aufbewahrt wird, findet man die Motten hauptsächlich in den Falten am Bund. Untersucht man Körner von stark infizierten Stellen, so findet man bei genauerem Zusehen kleine, rötliche, den Spelzen oder den Hüllschalen anhaftende Häufchen: es sind dies die vom Weibchen abgelegten Eier. Sperrt man Motten in ein Glas ein, so bemerkt man bald, dafs Schmutzflecke an der Wand sich häufen, die flüssig sind und lauter stark lichtbrechende Körperchen enthalten: es sind die Exkremente der Motten.

Hier hat man auch Gelegenheit, die Begattung zu beobachten. Männchen und Weibchen sind jedoch nur wenig voneinander unterschieden. Das erstere zeigt bei mikroskopischer Untersuchung am Hinterende scharfe Haken, mit denen es sich am Weibchen festklammert. Schüttet man den Staub von dem infizierten Getreide auf eine Glasplatte, dann bekommt man häufig genug auch die kleinen, aus den Eiern hervorgegangenen Raupen zu sehen, die aufserordentlich lebhafte Sprungbewegungen ausführen. Die Raupen fressen nun die Körner an, oft mehrere benachbarte ziemlich gleichzeitig, und spinnen sie mit den feinen Spinnfäden, die sie absondern, mehr oder weniger fest zusammen; es kommt jedoch auch vor, dafs solche Raupen nur ein Korn anbeifsen und sich in ihm festsetzen, um darin fast bis zur Gröfse des Korns heranzuwachsen als „weifser Kornwurm“. Der Mehlkörper wird bei der Gelegenheit fast ganz aufgezehrt. In solchen Körnern findet man oft die ganze Höhlung mit dichtem Gespinst austapeziert. Die Raupe kann

so überwintern, um dann im Frühjahr in den Puppenzustand überzugehen. Dieser währt nur kurze Zeit und das „Imago", der fertige Schmetterling, schlüpft durch ein schon vorher von der Raupe gebohrtes weites Loch aus den Hüllschalen hervor. Die Puppen gleichen sehr denen anderer Schmetterlinge, nur sind sie sehr klein.

Untenstehende Zeichnung zeigt uns die Raupe der mit der Kornmotte naheverwandten Kleidermotte. Besonders interessant ist der Bau

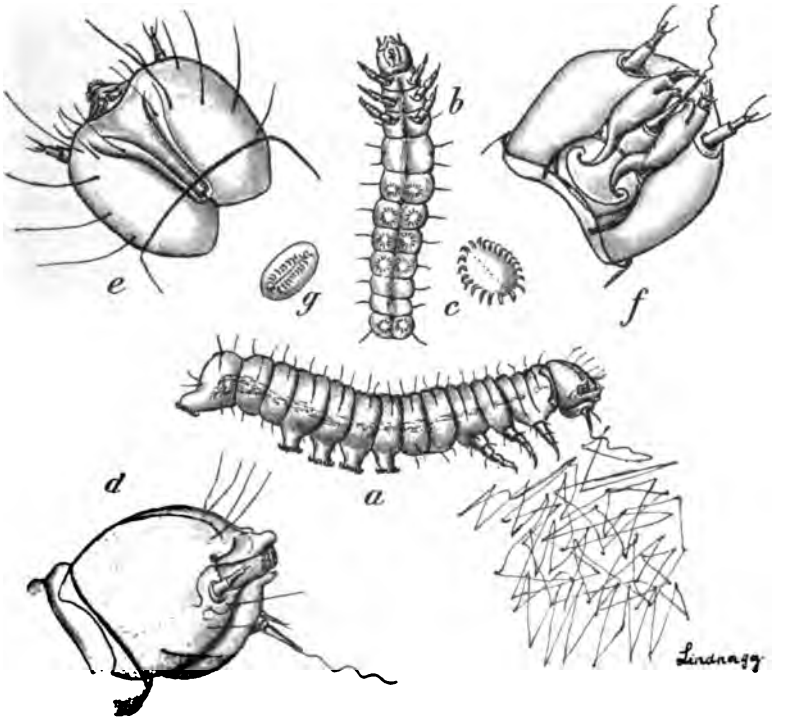


Abb. 40. Raupe der Kleidermotte, Tinea pelionella.
a Raupe, den Spinnfaden erzeugend. b Raupe von der Bauchseite (kleiner gezeichnet als a). c und g Fufsstummel mit Hakenkranz; bei g eingezogen. d, e, f Der Kopf von der Seite, von oben und von unten gesehen.

des Kopfes mit dem Spinnapparat und der Fufsstummel mit dem Hakenkranz.

Es sind Angaben gemacht worden, wonach auf Speichern plötzlich solche Mottenepidemien ausgebrochen sind, dafs die Arbeiter nur mit verbundenem Mund und Nase in dem Getreide arbeiten konnten. Wochenlang wurden täglich über 100000 Motten getötet, und immer war noch kein Nachlassen in der Zahl zu bemerken. Verf. hat selbst auch alte Gerste in Säcken gesehen, die fast nur aus hohlen resp. mit Raupen ausgefüllten Körnern bestand.

Tägliche Jagd auf die Motten, sowie sorgfältiges Absuchen der Balken und Bretterverschläge ist notwendig, will man einer Massenverseuchung vorbeugen.

Das Radikalmittel wird auch hier ein vorsichtiges Darren bei ca. 50° C. (= 40° R.) sein. Eine Erfahrung besagt auch, dafs Sperlinge vorzügliche Jäger auf die Motten sein sollen, so zwar, dafs sie bei reichlichem Vorhandensein derselben die Getreidekörner unberührt lassen.[1])

Schliefslich möge nicht unerwähnt bleiben, dafs die Verfütterung von stark durch Käfer und Motten geschädigtem Getreide für das Vieh leicht Lungenentzündungen und böse Katarrhe im Gefolge hat. Zu verwundern ist das nicht, wenn man den Staub von solchem Getreide sich mikroskopisch betrachtet. Es finden sich hier neben dem feinen Mehlstaub und den Exkrementen auch massenhaft die kleinen Flügelschüppchen der Motte mit ihrem stachelichen Besatz und spitzen Stielchen.

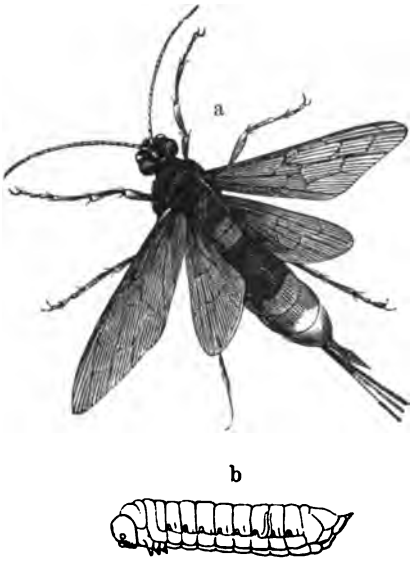


Abb. 41.
Riesenholzwespe, Sirex gigas.

Holzwespen. Von einem früheren Schüler erhielt Verfasser vor einiger Zeit eine Flasche mit Holzwespen zugesandt mit einem Begleitschreiben, in welchem angegeben war, dafs diese Tiere in einem Bierdepot die ganzen Fufsböden ruiniert hätten, indem sie sich von unten nach oben durchgebohrt und fein gearbeitete Löcher, gröfser im Durchmesser als die Tiere selbst, hinterlassen hätten. Die eingesandten Exemplare, die durch ihre ungewöhnliche Gröfse (30—40 mm) und ihren langen, wie eine Lanzenspitze endigenden Afterdorn auffielen, gehörten der Species Sirex gigas (grofse Fichtenholzwespe) an. Ihre Larven bohren die erwähnten Gänge (bis 10 mm im Durchmesser), die oft 60—70 cm lang werden. Am Ende des Ganges, der allmählich an Breite zugenommen, liegt die Puppenwiege. Um aber ins Freie zu gelangen, ist die junge Wespe genötigt, die noch

[1]) Wer viel mit Getreidelagerung zu thun hat, der möge auf das Buch „Getreide und Hülsenfrüchte", Berlin 1895, Verlag E. S. Mittler & Sohn, verwiesen werden. Demselben sind auch einige oben angeführte Mitteilungen entnommen.

übrig gebliebene Trennungswand zu durchbeifsen. Dabei geht sie oft zu Grunde, wenn die letztere noch zu dick war. Aufser Fichte wird auch Tanne und Kieferholz befallen. Die natürlichen Feinde sind die Schwarz- und Buntspechte, sowie eine Anzahl Schlupfwespen.

§ 15. Von der Gerstenpflanze.

Die Gerste, wie ihre nächsten Verwandten, Roggen, Weizen, Hafer, Reis, Mais, Hirse u. s. w., gehört zur Familie der Gräser. Die Gräser sind erst jüngeren Datums in der Erdgeschichte.

Was lehrt uns darüber die Paläontologie? Sie kennt Angehörige aus der Familie der Gräser erst aus dem mittleren Tertiär — in Form schilfartiger Gewächse, die an den Ufern der Seen sich ansiedelten; in der quarternären, also der jüngsten Epoche der Erdgeschichte aber treten erst Gräser auf, die mehr auf ein dem jetzigen entsprechendes Klima deuten, das zu weit ausgedehnten Steppenbildungen Veranlassung gegeben hat, im Gegensatz zu dem mehr tropischen Klima von vordem. Eine Menge Eigenschaften der Gerste lassen sie als Steppenpflanze deuten: die starke Entwicklung von Grannen — die nachts als Taufänger fungieren und so den Regenmangel weniger empfindlich machen —, der Wachsüberzug auf Halm und Blatt, um die übermäfsige Verdunstung hintanzuhalten, die Windbestäubung während der Blüte, die trockenes Wetter und freies Feld voraussetzt, die starke Festigung und Elasticität des Halms, die auch dann nicht versagt, wenn der Wind kräftig über die Steppe bläst. Im Schatten des Waldes knickt jeder Grashalm leicht zusammen. Wir können vielleicht das Auftreten der Gräser zurückdatieren in eine Zeit, da unsere Braunkohlenlager angelegt wurden. Zur Zeit, wo die Steinkohlen aus dem kräftigen Pflanzenwuchs der Vorwelt ihre Entstehung nahmen, gab es sicher noch keine Gräser, sondern nur Pflanzen von einer niedrigeren Organisationsstufe, wie Schachtelhalme, Baumfarne, Bärlappgewächse. Die ersten Amphibien, die damals auftauchten, oder die ersten Reptilien, deren fossile Überreste im Perm erst gefunden, ja die ersten Säugetiere und Vögel der noch späteren Triasperiode: sie alle haben sich noch nicht von wirklichem Gras genährt, und ihre Freswerkzeuge deuten noch nicht auf harte Körnerfrüchte. Inzwischen waren aber schon Palmen, Nadelhölzer und Laubhölzer in Hülle und Fülle aufgetaucht. Also selbst so hoch organisierte Pflanzenformen gehen dem ersten Auftreten der Gräser voraus. Es liegt da der Schlufs schon nahe, dafs die Gräser eine hochentwickelte Organisation aufzuweisen haben werden.

Und so ist es auch. Wie kompliziert ist doch der Bau der Getreidefrüchte und wie viel lateinische Namen giebt es für die Bezeichnung der einzelnen Teile, wie kunstvoll ist doch der Bau der Wurzeln und der

Halme! — Namentlich die letzteren sind Meisterwerke der Architektur. — Welcher Baumeister würde es wagen, auf einen hohen Schornstein ein 10—20stöckiges Gebäude zu setzen und dabei Schwankungen, wie die des Halmes in Rechnung zu ziehen? Aus welchen Gründen die Gräser so elastische Halme sich angeeignet haben mögen, ist nicht sicher zu sagen; vielleicht geschah es, um den Vögeln das Herumknabbern an den Ähren oder Rispen einigermafsen zu erschweren. Die Phalanx von Grannen scheint übrigens demselben Zweck zu dienen. Jedenfalls ist es den Getreidepflanzen nicht erwünscht, dafs ihre Früchte verspeist werden, wie es bei Obstarten der Fall ist, deren harte Samen meist unbeschädigt den Darmkanal passieren und in dem einschliefsenden Kotballen eine Mitgift von Nährmaterial für die junge Keimpflanze erhalten.

Die Getreidefrucht entbehrt daher auch der Lockfarben, deren sich unsere Obst- und Beerenpflanzen bedienen, ebenso, wie der saftigen, süfsen, wohlschmeckenden Hüllen. Nur bei den gröfseren Pflanzenfressern, wie Rind und Pferd u. s. w., können hin und wieder unbeschädigte Körner lebend den Magen und Darmkanal passieren; so sieht man z. B. öfters aus Pferdeäpfeln, die unter einer Glasglocke vor dem Austrocknen geschützt werden, ein junges Haferpflänzchen kräftig hervorsprieſsen. Dafs auf die harten verkieselten Spelzen der Körnerfrüchte sich unsere Rinder und Pferde eingerichtet haben, geht aus dem Vorhandensein zahlreicher Schmelzfalten in den Zähnen hervor, die einer vorzeitigen Abnutzung des Zahnes vorbeugen. Da wir aber wissen, dafs die Vorfahren unserer Pferde ursprünglich gar keine oder nur spärlich entwickelte Schmelzfalten innerhalb des Zahnkörpers aufzuweisen hatten, können wir mit einiger Wahrscheinlichkeit den Schlufs ziehen, dafs die Körnerfrüchte erst in jüngeren Erdentagen ihre harten Spelzen erhalten haben.

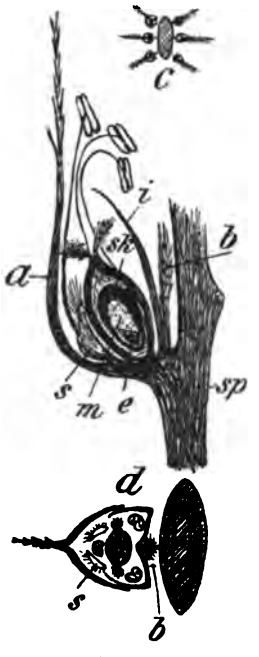


Abb. 42.
a Äufsere Spelze einer im Längsschnitt gezeichneten Gerstenblüte. d Das Diagramm dieser Blüte. c Anordnung der Blüten einer sechszeiligen Gerste um die Ährenspindel. b Basalborste. i Innere Spelze. s Schüppchen. e Embryo. m Mehlkörper. sk Samenknospe. sp Ährenspindel.

Fragen wir nach der näheren Verwandtschaft der Gräser, so erhalten wir vom Botaniker die Antwort, dafs die Gräser und die lilienblütigen Pflanzen höchst wahrscheinlich sich aus einer gemeinsamen Stammform, die den heutigen Binsengewächsen ähnlich gewesen sein mufs, aber heut' ausgestorben ist, herleiten dürften. Während aber die Lilienblütigen sich auf

Insektenbestäubung eingerichtet und demzufolge das Lockmittel schön gefärbter Blumenblätter sich angeeignet haben, haben die Gräser sich auf Windbestäubung eingerichtet und damit auch auf die Ausbildung farbenprächtiger Blüten verzichtet. Das Blütendiagramm der Gräser (Abb. 42) weist jedoch noch sehr nahe Beziehungen zu dem der Lilienblütigen auf, nur sind an Stelle von 3 Kelchblättern 2 Spelzen und an der Stelle von 3 Blumenblättern 2 schüppchenförmige, also stark reduzierte Gebilde getreten. Diese „Schüppchen" sind an der Basis dick angeschwollene zipfelähnliche Blattbildungen, deren Ränder reichlich mit längeren oder kürzeren Haaren besetzt sind. Sie spreizen zur Zeit der Blüte die beiden Spelzen auseinander, so dafs die federartige Narbe und die Staubblätter kurze Zeit, bis die Schüppchen wieder schrumpfen, aus den Spelzen hervortreten können, um Blütenstaub aufzufangen resp. auszustreuen. Fig. c in Abb. 43 zeigt die von den Spelzen befreiten Blütenteile: drei Staubblätter — die männlichen — ein Fruchtblatt — das weibliche Element der Blüte, und weiter hinten, nur wenig sichtbar, die beiden Schüppchen (g). Das junge Fruchtblatt hat ganz die Form eines Herzens und oben heraus brechen wie zwei starke, in hundert schmale Zungen sich zerteilende Flammen die Narbenäste hervor. Sehen wir uns die Narbenäste etwas näher an, und zwar zu einer Zeit, wo die Staubblätter aus ihren Beuteln schon ihren Samen — die Pollenkörner — entleert haben, so erscheinen sie uns wie kleine Bäumchen, in deren Ästen eine grofse Zahl, oft viele Hunderte von kleinen, kugeligen, gelben Früchten hängen.

Wie Leimruten und Fangarme wirken die papillösen Narbenästchen; ein klebriger Stoff von honigähnlicher Beschaffenheit, den sie ausschwitzen, hält nämlich das Pollenkorn fest, und regt es auch zum Auskeimen an. Die Keimschläuche stofsen bei dem Hineinwachsen in die Narbenäste auf einen erheblichen Widerstand, und da sie schneller wachsen, als die Spitze vordringt, werden die Pollenkörner scheinbar abgestofsen (e). Im Innern des herzförmigen Organes wird als kostbarstes Erzeugnis nur eine einzige Eizelle (ei) angelegt und diese ist das Ziel, dem jene Hunderte von Pollenschläuchen entgegenwachsen. Welcher Pollenschlauch am schnellsten wächst und den kürzesten Weg einschlägt, der geht als Sieger hervor; von ihm empfängt die Eizelle befruchtende Stoffe, ohne welche sie selbst unfähig bliebe, sich weiter zu entwickeln zu dem Keimling, den wir in jedem Gerstenkorn vorfinden und der uns wohl bekannt ist. —

Zur Zeit der Blüte dringt also eine Menge Blütenstaub in den von den Spelzen umschlossenen Raum ein[1]); aber — und das hat Bedeutung für uns — mit dem Blütenstaub weht auch anderer Staub herein —

[1]) Bei der Gerste kommt auch Selbstbefruchtung innerhalb der Spelzen vor.

Pilzsporen, Bakterien und Hefenkeime —, und so dürfen wir uns nicht wundern, daſs, wenn wir ein Korn auch noch so gut aufsen geputzt und keimfrei gemacht haben, nachher beim Schroten und Einteigen in sterilem Wasser doch noch Mikrobenentwicklungen auftreten. Die Mehrzahl der Schüppchen aus reifen Gerstenkörnern sind von Schimmelpilzwucherungen durchsetzt. Hier wird oft die Ursache zu suchen sein, weshalb ein Gerstenkorn nicht zur Keimung zu bringen ist. Die dem Keimling anliegenden Schüppchen können die erhaltene Infektion auch auf den Keimling selbst übertragen. Ich habe nur sehr selten Schüppchen gesehen, die anscheinend ganz frei von Infektionen waren. Man möchte

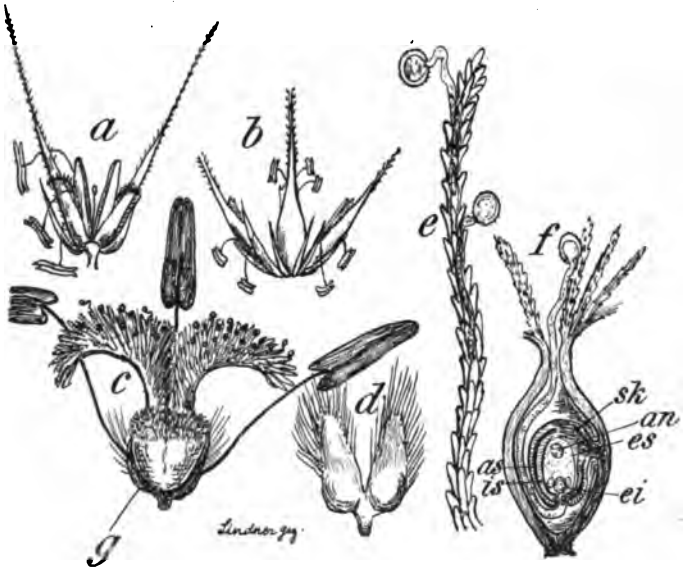


Abb. 43.
a Roggenblüte. b Gerstenblüte. c Teile der Gerstenblüte. g Schüppchen, dem Fruchtblatt hinten anliegend. d Schüppchenpaar. e Narbenast mit ausgekeimten Pollenkörnern. f Längsschnitt durch den Fruchtknoten, schematisch. as Äufsere Samenschale. is Innere Samenschale. sk Samenknospe. an Antipodenzelle. ei Eizelle. es Endosperm.

fast versucht sein, diesen Gebilden die Rolle von Nektarien zuzugestehen, die durch süfse Sekrete die Insekten anzulocken bestimmt sind. Wer zur Zeit der Blüte der Gersten — speciell bei der auf Schutt wildwachsenden Mäusegerste habe ich dies beobachtet — die Ähren sich näher betrachtet, wird oft genug winzige Käferchen von aufserordentlich langgezogener Form darin spazieren gehen und in die geöffneten Spelzen eindringen sehen. Haben wir hier vielleicht die Anfänge einer Insektenbefruchtung vor uns oder die letzten Ausläufer einer solchen aus früheren Zeiten? Werden sich die Schüppchen späterhin noch einmal als bunte farbige Blumenblätter präsentieren oder sind sie verkümmerte Über-

bleibsel solcher aus vergangenen Zeiten, wo vielleicht die Grasblüten wie die Lilien noch heute in bunter Farbenschöne den grünen Untergrund belebten?

Unsere Gräser und auch die Gerste wären dann trotz ihres jugendlichen geologischen Alters doch schon stark reduzierte Formen. Nun, eine solche Reduktion hat mitunter auch gewisse Vorteile. So ist ja die zweizeilige Gerste eine reduzierte Form der sechszeiligen Gerste, in dem von den sechs Blüten, die um die Ährenspindel angelegt sind, nur zwei fruchtbar sind. Die verkümmerten vier Blüten sind für uns wertlos; sie verbleiben an der Ähre beim Drusch.

Für den Naturforscher sind sie aber von hervorragendem Interesse, da sie die nahe Verwandtschaft der zweizeiligen Gerste mit der sechszeiligen dokumentieren. Dieses Beispiel einer Reduktion von Organen steht nicht vereinzelt da. Die Vorderhufe des Pferdes umgeben das äufserste Glied des Mittelfingers, die Hinterhufe das äufserste Glied der Mittelzehe. Der erste und fünfte Finger, sowie die erste und fünfte Zehe fehlen dem Pferde. Der zweite und vierte Finger, die zweite und vierte Zehe sind unter der Haut durch verkümmerte Knochen vertreten.

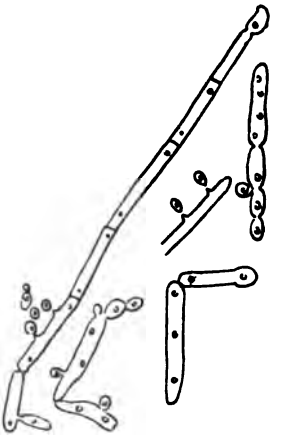


Abb. 44.
Moniliaartiger Pilz, auf den Schüppchen gefunden.

Noch eine Bemerkung über die mutmafsliche Rolle der Schüppchen beim Mälzen. Wenn man die Schüppchen unter dem Mikroskop betrachten will, legen sich zumeist immer grofse Luftblasen zwischen die Randhärchen und auf die innere Fläche, die sich nur schwer entfernen lassen. Beim Einweichen der Gerste dürften die Schüppchen in ähnlicher Weise Luft zwischen sich und der Stelle, wo sie dem Keimling anliegen, festhalten. Das Eindringen von Feuchtigkeit von den Schüppchen aus wird so erschwert werden. Ob das günstig wirkt oder ungünstig, mufs besonderen Studien überlassen bleiben, wobei man zum Vergleich die nackte Gerste, die ja keine Schüppchen mehr besitzt, heranziehen müfste.

Wie sich aus der befruchteten Eizelle allmählich der Keimling, wie er sich im reifen Korn vorfindet, entwickelt, kann hier nur kurz besprochen werden.

Hier wird bezüglich des Näheren auf das monumentale Werk von Holzner und Lermer, „Beiträge zur Kenntnis der Gerste", zu verweisen sein.

Das Fruchtblatt der Gerste bildet nur eine Samenknospe aus, nicht wie z. B. die Schote eine gröfsere Anzahl. Die Samenknospe erzeugt

in ihrem „Knospenkern", der von zwei Schutzhüllen, der äufseren und inneren Samenschale umgeben ist, eine Zelle, welche sich vor ihresgleichen frühzeitig durch stärkeres Wachstum auszeichnet: den Embryosack.

In diesem geht eine Teilung des Zellkerns vor sich, ohne dafs Querwände die Teile abgrenzen. Die Nachkommen des Zellkerns haben verschiedene Fähigkeiten vererbt bekommen. Der eine Teil legt durch zahlreiche Vermehrung den Grund zu der Entstehung des Endosperms, des Dotters, der andere zur Bildung des Eiapparates. Bei der Befruchtung durch den Pollenschlauch ist allerdings nur eine einzige Zelle, die Eizelle, direkt beteiligt, die beiden anderen Zellen, die als „Gehilfinnen"

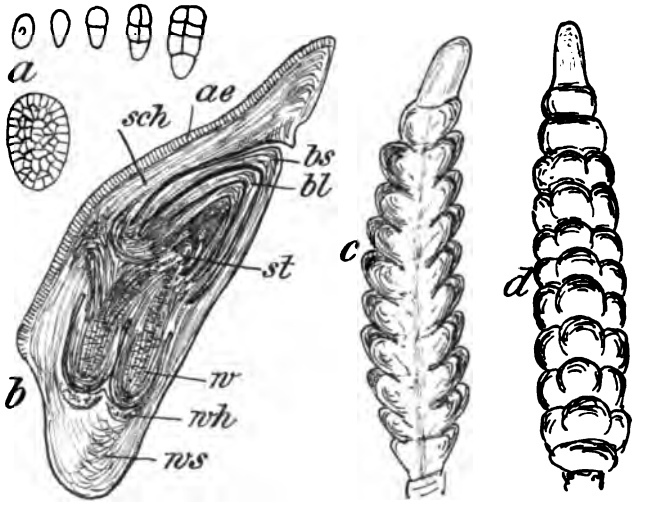


Abb. 45.
a Die ersten Entwicklungsphasen der Eizelle. b Keimling im Längsschnitt. c und d Junge Ähre. sch Schildchen. ae Aufsaugeepithel. bs Blattkeimscheide. bl Blatt. st Stammspitze. w Wurzel. wh Wurzelhaube. ws Wurzelscheide.

bezeichnet werden, haben offenbar nur nebensächliche Funktionen dabei zu erfüllen. Die Befruchtung wird perfekt, indem der Zellkern des Pollenschlauchs in die Eizelle eindringt und mit dem Zellkern der Eizelle verschmilzt. Erst jetzt wird die Eizelle teilungsfähig. Aus ihr geht durch fortgesetzte Zellteilungen der Embryo hervor. Bei der Reife des Korns nimmt der Embryo nur einen kleinen Teil des mächtig vergröfserten Embryosackes ein, den übrigen füllt die Nachkommenschaft der „Antipodenzellen", das Endosperm, aus, welches den Mehlkörper und die ihn gegen die Gewebe des Knospenkerns abschliefsende Kleberschicht umfafst. Die beiden Hüllen des Knospenkerns bilden bei der Reife papierdünne Häute: die Samenschale, um welche sich das ebenfalls ganz dünn gewordene Fruchtblatt als Fruchtschale legt. Diese wieder wird noch eingeschlossen von den Spelzen, die man als Kelchblätter

vielleicht deuten kann. Die Entwicklung der Eizelle zum Embryo oder „Keimling" veranschaulicht Abb. 45a.

Fig. b stellt den Keimling in einem Längsschnitt dar. Er gleicht einem Wickelkind, das in den Geweben der Blattkeim- und Wurzelkissen wie in einem Stechkissen liegt. Das kleine Köpfchen, das später zum Stamm resp. Halm auswächst (st), ist noch ganz wie in einen Turban eingehüllt von den ersten tütenförmig zusammengerollten Blättern. Wo die Beinchen des Säuglings in den Windeln stecken, da sieht man hier die jungen Würzelchen, die unten mit einem Strumpf, der sogenannten Wurzelhaube, überzogen sind. Die Wurzelhaube ist ein Schutzorgan, das, wenn die Würzelchen wie kleine Spargelstangen aus dem Korn hervorbrechen und in dem Erdboden abwärts wachsen, die Wurzelspitze und ihr wichtigstes Organ, die Scheitelzelle, vor Verletzungen an scharfen Sandkörnchen u. dergl. schützt. Die Scheitelzelle ist wie ein Bandwurmkopf, der immerwährend neue Glieder erzeugt, aber nicht nur wie beim Bandwurm eine Reihe, sondern ein ganzes Bündel von Zellreihen, die dann zusammen die Wurzel bilden. In der Mälzerei ist der Schutz der Wurzelspitze nicht so wichtig, und es wäre für den Brauer sogar besser, die Wurzelhauben blieben weg, da sie aus Zellen mit starken Schleimschichten bestehen, welche Ansiedlungsstellen für Hefen und Bakterien aller Art bilden.

Die Würzelchen wachsen bei ruhig liegendem Korn immer abwärts, dem Schwerpunkt der Erde zu, bei hin und her geworfenen Körnern krümmen sie sich entsprechend. Nur Wurzeln, deren Spitzen verletzt sind, haben die Fähigkeit verloren, geotropische Krümmungen auszuführen. Der Reiz zur Krümmung geht also von der Spitze aus; sie ist der Sitz der „Gehirnfunktion", wie Darwin sich ausdrückt, der diese Abhängigkeit der Krümmung von dem Vorhandensein der Wurzelspitze zuerst entdeckte.

Die jungen Wurzeln zeichnen sich gleich den Spargelstangen aus durch einen hohen Gehalt an Asparagin und besitzen demnach einen hohen Nährwert. Im Boden erreichen sie Tiefen von ca. 1,5 m, aus denen sie Wasser und Nährsalze beschaffen (Abb. 46).

In Keimapparaten treffen wir bald einen dichten Wald von Wurzelhärchen an, welchen die Aufgabe zufällt, die Nahrung im Boden aufzusuchen.

Auf der Tenne kleben die Wurzelhärchen an den Wurzeln fest und werden daher kaum beobachtet. Die Wurzeln wachsen nicht blofs nach unten, sie werden auch durch Feuchtigkeit abgelenkt. Durch öftere Veränderung der Lage des Korns beim Umschaufeln wirken die genannten Faktoren dahin, dafs sich die Wurzeln kräuseln.

Nicht unwahrscheinlich ist nach Versuchen von Frank, dafs sie in ihrer Thätigkeit durch gewisse Bodenorganismen unterstützt werden.

In lockerem Boden gekeimte Gerstenpflanzen bilden auch aus dem Stammorgan heraus gelegentlich noch Wurzeln, die wohl weniger zur Nahrungsaufnahme, als vielmehr zur Festigung des oberirdischen Teiles der Pflanze dienen.

Soll der Keimling seine Wurzel, Blatt und Stamm kräftig entwickeln, so bedarf es einer entsprechenden Zufuhr von Nahrung, und diese vermittelt ein Organ, das einem Dottersack ähnlich nach dem Mehlkörper zu gelegen ist, das sogenannte „Schildchen".

Es ist ein Saugorgan, und der von der Kleberschicht eingeschlossene Mehlkörper ist die Vorratskammer, in welcher unter Zuhilfenahme bestimmter Verdauungssäfte, sogenannter Enzyme, die Milch für den Säugling bereitet wird. Die Grenzschicht des Schildchens, das sogenannte „Aufsaugeepithel" mit seinen pallisadenähnlichen lückenlos aneinandergereihten Zellen saugt diese Milch auf. Sie besteht aus Wasser, Zucker — allerdings nicht Milchzucker, sondern Maltose, Dextrose, Rohrzucker, Dextrinen und aus gelösten Eiweifskörpern, Peptonen, Amiden und gewissen Nährsalzen. Im Schildchen wird die aufgenommene Maltose in Rohrzucker verwandelt, und dieser — im Embryo des trocknen Gerstenkorns ist übrigens schon Rohrzucker in gröfserer Menge gespeichert gewesen — wandert nach den Wurzeln und Blättern zu, wird aber unterwegs zum Teil invertiert zu Glukose und Fruktose, zum Teil in „transitorische" Stärke zurückverwandelt.

Abb. 46. Gerstenpflanze mit tiefgehender Wurzel (nach Orth).

Abb. 47. Keimendes Gerstenkorn. Wurzelhärchen.

Ein Querschnitt durch den Mehlkörper zeigt uns die in den einzelnen Zellen aufgespeicherte, noch nicht flüssig gemachte Nahrung. Wir sehen aufser den dünnen Zellwandungen hauptsächlich Stärkekörner und zwischen diesen gerinnselartige Massen, das Protoplasma der Zelle.

Die hier skizzierten Vorgänge spielen sich in normaler Weise nur in genügend gelagerter Gerste ab.

Frisch geerntete Gerste keimt mangelhaft oder gar nicht; eine Nachreife ist nötig, eine Samenruhe, während welcher die Keimfähigkeit steigt. Längere Lagerung begünstigt die Schnelligkeit und Gleichmäfsigkeit des Keimprozesses. Auch bei guter Lagerung nimmt nach einer gewissen Zeit die Keimfähigkeit ab, während die Keimungsenergie noch wächst.

Der hohe Wassergehalt frischer Gerste als solcher ist nicht die Ursache der auffallend ungünstigen Keimfähigkeit, sondern die ungenügende Reife.

Gerste mit hohem Wassergehalt zeigt nach längerer Lagerung eine bedeutende Zunahme der Keimfähigkeit, auch wenn bei der Lagerung eine erhebliche Verminderung des Wassergehaltes nicht erfolgen konnte (Wichmann).

Wie sich bei dem Vergleich von Gerstenmehl und Malzmehl ergiebt, sind die Stärkekörner im Malz zum Teil merkwürdig verändert: sie zeigen Bohrlöcher und von diesen ins Innere abgehende Spalten. Das ist das Werk der Diastase. Auch mit der Zunge können wir ihre Wirkung verspüren: das Malzmehl schmeckt süfs.

Auch die Eiweifskörper erfahren beim Mälzen eine Änderung. Besonders reich an Eiweifs sind die Schichten unterhalb der Kleberschicht. Grüfs nennt dieses Eiweifs „Reserveeiweifs".

Keimling und Mehlkörper sind in solchem Verhältnis gegeneinander abgewogen, dafs durch Aufzehren des letzteren der erstere so weit heranreift, dafs er sich selbständig nachher ernähren kann.

Ein sonderbares Geschick, dafs von den Nachkommen zweier Geschwister — denn die Eizelle, aus welcher der Keimling hervorgeht, und die Antipodenzellen, aus denen der Mehlkörper hervorgeht, sind beides Kinder einer und derselben Mutterzelle — des Embryosackes — die einen für die anderen sich aufopfern müssen!

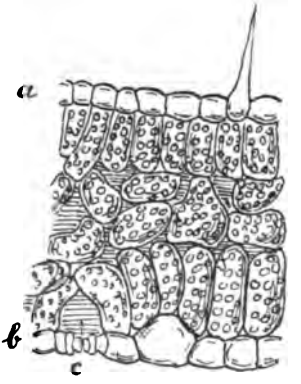


Abb. 48.
Querschnitt durch ein Roggenblatt.
a Obere, b untere Epidermis.
c Spaltöffnung.

Nun wollen wir die Gerstenpflanze noch in ihrem selbständigen Schaffen belauschen. Die Blätter haben sich grün gefärbt und verlangen nach Luft und Sonne. Aus ersterer saugen sie die Kohlensäure auf und mittelst der Sonnenstrahlen verarbeiten sie dieselbe in den grünen Zellen des Blattgewebes zu Stoffen, aus welchen nachher unsere Gerstenstärke entsteht. Ein Bild der Epidermis des Blattes zeigt uns in regelmäfsigen Abständen angeordnet die fortlaufende Reihe von Spaltöffnungen, die Nasenlöcher der Pflanze, durch welche die Luft eintritt, um in die Lunge derselben, in das grüne Schwammparenchym oder Mesophyll zu gelangen.

Frühzeitig schon erfolgt nun auf dem jungen Halme die Anlage der Ähre. Als kleines, kaum 2 mm grofses Gebilde finden wir sie versteckt in den dichten Blattumhüllungen an der Stelle, wo der oberste Knoten angelegt ist. Unter dem Mikroskop erscheint es uns in dem

jüngsten Stadium wie ein kleiner Maiskolben mit lauter kleinen Buckeln und Höckern (Abb. 45cd).

Pflückt man kurz vor der Vollreife Ähren und steckt sie in sterile Reagenzröhrchen, die mit Watte verschlossen werden, dann bilden sich

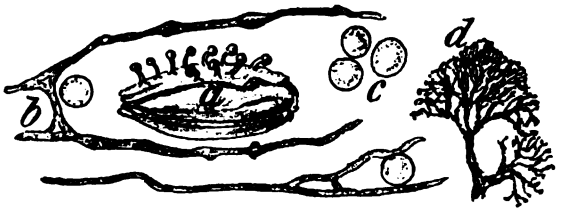


Abb. 49. Ein Schleimpilz, Physarum leucophaeum.
a Auf einem Gerstenkorn fruktifizierend. b Capillitium-Faser. c Sporen.
d Verzweigung des Plasmodiums.

nach einiger Zeit lebhafte Schimmelwucherungen, resp. es findet auch ein Auswachsen der Körner statt. Die eine Ähre kann ganz besetzt sein mit schwarzen, garbenartigen Gebilden, von denen schwarze Wolken von Sporen auf das Papier, das als Unterlage dient, fallen. Es ist eine Chaetomium-Pilzart. Die andere Ähre ist vielleicht mit bräunlich-rotem Gespinst überzogen von dem als Acrostalagmus cinnabarinus bekannten Pilz. Die dritte ist rosenrot gefärbt von Trichothecium roseum, die vierte endlich ist weifs überzogen u. s. w.

Abb. 50.
Fruchtätherhefe auf Grünmalz.

Wie kommt der Schimmel auf die Ähren? Die im Innern der Körner noch vorhandene, resp. durch Atmung entstandene Feuchtigkeit hat hingereicht, solche Pilzbildungen zu zeitigen.

Eine genauere mikroskopische Untersuchung wird aber noch die Anwesenheit von ganzen Bakterienzooglöen und auch von Hefen ergeben.

In den Keimapparaten bilden sich bei langem Stehen auf den Körnern oder auf dem Filterpapier manchmal pilzähnliche Gebilde aus, die gar keine wirklichen Pilze sind, sondern den Schleimpilzen, den Myxomyceten angehören (Abb. 49, vgl. auch Seite 62 und 63).

Zwei weitere Bilder zeigen uns Malzkörner, die statt mit Schimmel mit Hefe ganz besetzt sind, und zwar mit Fruchtätherhefen. Man bekommt solche Bilder fast immer, wenn man geweichte Gerste in weiteren Glasröhren, lose mit Watte verschlossen, beläfst. Es finden sich also Hefen schon auf den Gerstenkörnern vor, die nachher beim Beginn der Zuckerbildung kräftiger sich entwickeln bis zu solchen rosettenähnlichen Kolonien, wie Abb. 51 zeigt. Soll es uns da noch wundern, wenn südafrikanische Volksstämme mangels einer geeigneten Bezugsquelle für Hefe ihre Würzen mit den Exkrementen des Klippdachses anstellen, der als Körnerfresser den auf den Körnern vorhanden gewesenen Hefen im Magen und Darm reichlich Gelegenheit zur Vermehrung darbietet? Selbst der Mensch, sofern er viel vegetarische Kost, namentlich Obst, genieſst, kann in seinem Magen und Darmkanal gelegentlich so viel Hefen erzeugen, dafs diese einen bedeutenden Anteil der Exkremente ausmachen.

Abb. 51. Fruchtätherhefe, rosettenformige Kolonien auf Grünmalz (in einem Glasrohr aufbewahrt) bildend.

Die Chinesen und Japaner erzeugen ihr Bier mit Hefen und Pilzen, die auf der Reispflanze vorkommen.

§ 16. Erkennung verschiedener Gersten-Varietäten.

Der Praktiker kommt nur ausnahmsweise dazu, die Gerste draufsen auf dem Felde genauer in ihren Wuchsformen zu studieren und sich in dem Unterscheiden der verschiedenen Varietäten zu üben. Wohl ist es leicht, hier zu sagen, ob man es zu thun hat mit einer zweizeiligen oder sechszeiligen, mit einer nickenden oder aufrecht stehenden, einer ungefärbten oder farbigen, einer begrannten oder unbegrannten resp. nur teilweise begrannten, mit einer nackten oder mit einer bespelzten Gerste. Wenn aber das Korn ausgedroschen und ohne die übrigen Ährenglieder in den Handel gebracht wird, dann ist die Erkennung der Gerstenvarietäten aufserordentlich erschwert, ja ohne Zuhilfenahme einer Lupe oder eines Mikroskops oft nicht sichergestellt. Die Verwendung von Mischungen verschiedener Gerstensorten führt sowohl in der Mälzerei als auch auf dem Felde draufsen zu mehr oder weniger grofsen Unregelmäfsigkeiten. Vor allem ist für das Mälzen eine in sich einheitliche Ware erwünscht, und der Mälzer thut gut, etwas nach den Merkmalen zu sehen, welche ihm die Gegenwart mehrerer Sorten in der gekauften Handelsgerste anzuzeigen im stande sind.

Wir wollen deshalb hier die Unterscheidungsmerkmale der wichtigeren Varietäten besprechen.

Die zweizeilige Gerste liefert sehr gleichmäfsige volle Körner und unterscheidet sich hierdurch schon von der sechszeiligen, bei der nur die mittleren Körner die nötige Fülle besitzen, während die seitlichen, die sogenannten Krummschnäbel, ungleich ausgebildet, schwächlich und verbogen sind.

Sechszeilig und zweizeilig nennt man die Gerste nach der Anordnung der Körner um die Ährenspindel; bei der sechszeiligen liegen die Spitzen der Körner in den Winkeln eines Sechsecks, das man um die Ährenspindel sich gezogen denkt. Da letztere flachgedrückt ist, kommen auf jede Seite 3 Körner. Die zweizeilige Gerste ist im Grunde genommen auch eine sechszeilige, nur haben sich blofs 2 Körner, nämlich die der Ährenspindel direkt anliegenden, die sogenannten Mittelkörner, entwickelt. Die Blüten, aus denen sich die Krummschnäbel hätten entwickeln sollen, sind in der Ähre zwar in allen Teilen vollzählig vorhanden, jedoch nur rudimentär angelegt; sie bleiben beim Drusch an der Ähre sitzen, ebenso wie die sogenannten Balgklappen, welche zu je zwei immer einer Blüte zugeteilt sind. Die Untersuchung einer solchen verkümmerten Blüte, die schliefslich nur wie eine Spreuschuppe aussieht, ist in hohem Grade lehrreich. Wir finden wie bei dem reifen Korn auch hier 2 rudimentäre Kelchblätter, die innere und die äufsere Spelze; wir finden 3 verkümmerte Staubblätter, ein ebensolches Fruchtblatt, ferner 2 verkümmerte Blumenblätter, die Schüppchen, endlich noch die sog. Basalborste, den Ast, an dessen Unterseite die Blüte angesetzt hat.

Abb. 52.
Gewöhnliche sechszeilige Gerste nach Atterberg.

Da bei den Mittelkörnern resp. bei der sechszeiligen Gerste bei allen

6 Körnern die Spelzen dem Korn fest anhaften, alle oben genannten Blütenteile bis auf die Basalborste aber innerhalb der Spelzen gelagert sind, müssen wir bei dem reifen Korn — richtiger gesagt der Kornfrucht (Kariopsis) — diese auch antreffen. Da die Staubblätter zur Blütezeit des Getreides aus der Blüte heraushängen und dann abfallen, können von ihnen allerdings nur noch die dünnen Fadenstücke am Grunde vorgefunden werden. Andererseits finden wir aber die Basalborste noch vor, welche in der tiefen Rinne der inneren, der Ährenspindel zugekehrten

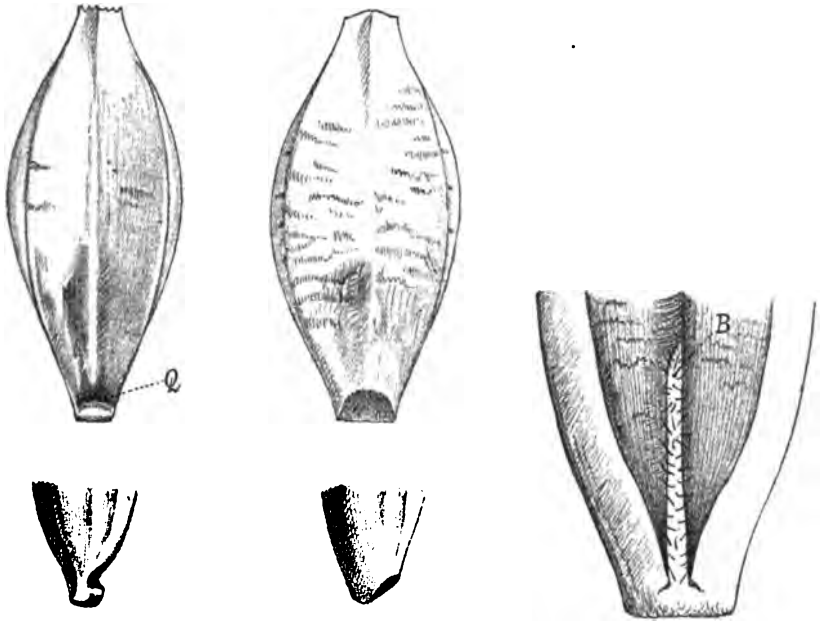


Abb. 53.

Imperialgerste, Hordeum erectum. Q = Querfurche. (Vergrößerung etwa 30fach.)

Chevalier- und Landgerste, Hord. distichum nutans.

Chevaliergerste. B = die Basalborste auf der Bauchseite der Gerstenfrucht. (Vergrößerung etwa 50fach.)

Nach Westermaier.

Spelze liegt. Beim Drusch ist also mit der reifen Frucht auch der kurze, von der Ährenspindel abgehende Seitenast', an dem sie herangewachsen, mit abgefallen.

Die an den äußeren Spelzen vorhanden gewesenen langen Grannen oder deren Ersatzstücke (ein Dreizack bei Hordeum trifurcatum) sind beim Drusch ebenfalls abgebrochen und die bei ihnen auftretenden Merkmale (ob kurz oder lang, rauh oder glatt u. s. w.) können demnach zur Unterscheidung der Varietäten in der Handelsware nicht mehr herangezogen werden. Es bleiben also eigentlich nur übrig: Größe, Form

und Aussehen der Körner, Dicke resp. Feinheit der Spelzen, Aussehen der Basalborste und der Schüppchen.

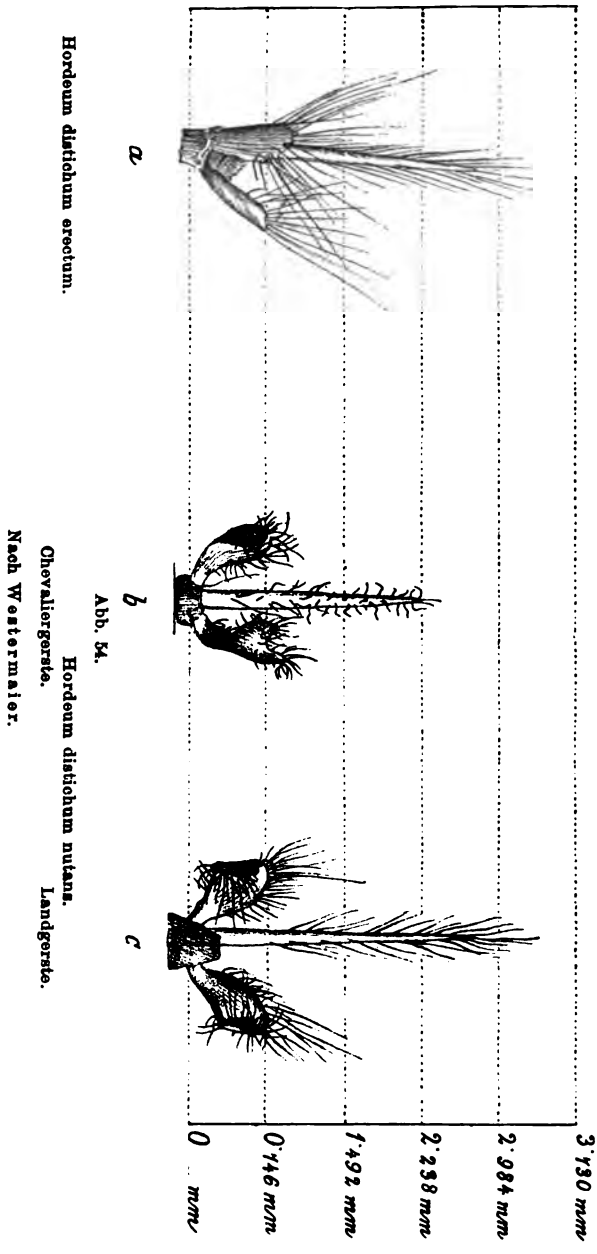


Abb. 54.

a Hordeum distichum erectum.
Chevaliergerste.
Nach Westermaier.

b Hordeum distichum nutans.
Landgerste.

Bei einigen Gersten sitzt das reife Korn nur lose in den Spelzen, ähnlich wie beim Roggen und Weizen; wir werden dann beim Drusch

die sogenannte „nackte Gerste" bekommen, indem die Spelze mit im Stroh verbleibt.

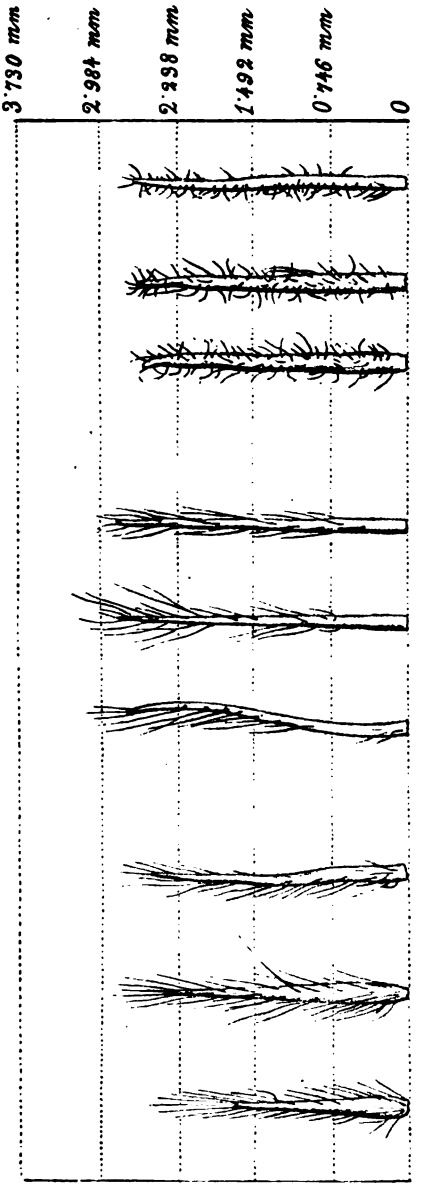


Abb. 55. Die Basalborste.
Nach Westermaier.

Das Fehlen der Spelzen ist eine zu auffällige Erscheinung, als dafs wir solche Körner in einer Ware übersehen könnten.

Die Körnerform anlangend, ist schon auf die Ungleichheit derselben bei der sechszeiligen Gerste aufmerksam gemacht. Da die Mittelkörner zwischen den Seitenkörnern (Rechts- und Linkskörner) eingeklemmt sitzen, ist ihre untere Hälfte keilförmig, statt bauchig wie bei der zweizeiligen Gerste. Auch mikroskopisch lassen sich nach Neergaard noch Unterschiede feststellen. Die erhöhten Längsnerven der Aufsenspelze sind bei der sechszeiligen Gerste meistens schärfer ausgeprägt; auch trägt das erste Seitenpaar der Längsnerven in der Nähe der Spitze kleine, nur mit der Lupe erkennbare Zähne. — Eine Untervarietät der sechszeiligen ist die sogenannte vierzeilige (H. tetrastichum), bei der 6 Körner so um die Spindel gruppiert sind, dafs die Ähre fast vierkantig statt sechskantig erscheint. H. hexastichum besitzt am Grunde des Korns eine Querfurche mit darunter befindlichem Wulst, tetrastichum eine einfache schräge Abflachung.

Nicht nur zwei-, vier- und sechszeilige Gerste kann man bei alleiniger Vorlage der Körner unterscheiden, auch innerhalb der Gruppe der zweizeiligen Gersten kann man die Zugehörigkeit zu Hordeum distichum nutans (mit nickender Ähre) oder zu H. dist. erectum (mit aufrechter Ähre) leicht feststellen. Die aufrechte oder Imperialgerste trägt, wie die H. hexastichum, am Grunde des Korns eine Querfurche und einen unten vorgelagerten Wulst, während die nickende Gerste daselbst nur eine einfache Abschrägung aufweist, wie H. tetrastichum.

Goldthorpe, Juwel, Webbs bartlose, Imperial- oder Kaiser-Gerste sind aufrechte Gersten (H. d. erectum), zu der nickenden Gerste (H. d. nutans) gehört die Chevalier- und Landgerste. Die Chevaliergerste hat kurzhaarige Basalborsten und Schüppchen, die Landgerste langhaarige. Zu der Landgerste gehören Hanna- und Printice-Gerste.

§ 17. Einiges über die Enzyme in der Gerste.

Das mikroskopische Bild von einem Querschnitt durch ein Gerstenkorn zeigt uns im Mehlkörper Zellwände, Stärkekörner und protoplasmatische Bestandteile, lauter feste Körper, die, sofern sie ihre Bestimmung, dem Keimling Nahrung zu liefern, erfüllen sollen, auch in lösliche Form gebracht und zur Wanderung bis in das Gewebe desselben befähigt werden müssen.

Tauchen wir einen dünnen Querschnitt in einige Tropfen Malzauszug im hohlen Objektträger, so beobachten wir ein Erweichen der Zellwandungen und schliefslich ein Auflösen derselben.

Das hier wirksame Enzym hat den Namen Cytase: Dieselbe tritt gleich beim Beginn des Keimungsvorganges in den Getreidekörnern auf, noch ehe die Amylase (Diastase) sich an die Lösung der Stärke-

körner macht und noch ehe das histologische Eiweifs in den stärkeführenden Zellen des Mehlkörpers und das Reserveeiweifs in den Zellen unmittelbar unter der Kleberschicht durch ein „proteolytisches" Enzym in Lösung gebracht wird. Dafs die Cytase von der Amylase verschieden ist, geht daraus hervor, dafs ein bei 60° erwärmter Malzauszug wohl noch die Fähigkeit hat, Stärke zu verzuckern, aber nicht mehr das Vermögen, ein seines Keimlings beraubtes Gerstenkorn mehlig und zerreibbar zu machen, was ein nicht erhitzter Malzauszug vermag. Eine vollkommene Lösung der Cellulose tritt übrigens nicht ein, sondern es bleibt nach Grüfs noch ein Rest zurück, welcher durch Congorot noch schwach gefärbt werden kann.

Die Cytase kommt offenbar auch im Sauerteig kräftig zur Geltung, auch beim Einteigen von Schrot bei Temperaturen von 30—40° C. Im Hafer ist sie besonders reichlich.

Bei 60—65° C wird sie zersetzt, während die Diastase noch über 70° erhitzt werden kann.

Das proteolytische Enzym kommt im rohen Gerstenkorn nur spurenweis vor, reichlicher in ausgewachsenen und eiweifsreichen Gersten. Erst beim Keimen und von da an bis zum Ergrünen tritt es immer kräftiger hervor. Den Darrprozefs überdauert es; in Malzauszügen verträgt es bis ca. 70° C. Nach Windisch und Schellhorn steht das Enzym dem Trypsin nahe.

Die Diastase macht sich im keimenden Gerstenkorn durch das Auftreten angefressener Stärkekörner und von Zucker bemerkbar. Beim Backen des Schwarzbrodes bedingt sie die Weichheit der Krume und deren auffallende Löslichkeit.

Um das verzuckernde Enzym möglich rein und wirksam zu erhalten, läfst Effront den aus 100 g feingemahlenem Malz mit 300 g Wasser nach 18stündigem Stehen (halbstündlich umrühren!) bei 30° erhaltenen filtrierten Malzauszug mit 100 g stickstoffarmer Bierhefe, welche vorher 24 Std. in einer 10%igen Zuckerlösung geweilt hat, während 48 Std. bei 28° C. gähren; die Menge der Extraktstoffe, welche kein diastatisches Vermögen besitzen, wird dadurch vermindert.

Aus 100 g Malz bekommt man 3—3½ g einer weifsen Substanz, welche dasselbe aktive Vermögen besitzt als 80 g des angewandten Malzes.

Wroblewski geht so vor, dafs er dem Malzauszug so lange schwefelsaures Ammon hinzufügt, bis eine Trübung sich zeigt. Nach einiger Ruhe setzen sich gelbliche Flocken ab, die er auf dem Filter mit 54%iger Lösung desselben Salzes auswäscht. Dieser Niederschlag ist frei von Pentosen (Araban), die sonst gewöhnlich mit der Diastase gemischt bleiben.

Der Wysmannsche Versuch.

Wysmann hat eine sehr hübsche Methode angegeben, um die Diastasewirkung auch dem Auge sichtbar zu machen. Er benützt eine Stärkegelatineplatte. Auf Grund der hier gemachten Beobachtungen hat er die Behauptung aufgestellt, dafs die Diastase nicht einheitlich sei, sondern aus zwei Enzymen bestehe, die er Maltase und Granulase nennt und die mit verschiedener Geschwindigkeit in die Gelatine diffundieren sollen; die Maltase schneller, die Granulase langsamer. Es ist sehr lehrreich, einen solchen Versuch einmal selbst auszuführen.

Wir lösen 6% Gelatine in destilliertem Wasser und fügen ca. ½% Kartoffelstärke oder besser ebensoviel „lösliche" Stärke hinzu, kochen einige Minuten und gieſsen dann die Lösung zu einer sehr dünnen Schicht in einer Glasdose mit ebenem Boden aus oder lassen sie in einem Rollcylinder an der Wandung erstarren. Die zu untersuchenden Körper legen wir dann in gewissen Abständen darauf. In Rollcylindern kleben wir sie dadurch fest, dafs wir die Stelle, wo sie hinkommen sollen, vorher mit einem warmen Platindraht aufschmelzen.

Nun sorgt man durch einen mit einigen Tropfen Chloroform getränkten Wattepfropfen dafür, dafs in den nächsten Tagen keine Schimmelbildung eintritt. Schon mit bloſsem Auge gewahrt man ein allmähliges Aufhellen der milchigen Gelatine in unmittelbarer Nähe der einzelnen, diastasehaltigen Objekte; mitunter, wie bei den Keimlingen, beobachtet man ein Abschmelzen der Gelatine und ein Herabgleiten des aufgelegten Körpers, was die Gegenwart eines proteolytischen Enzyms verrät.

Ohne Chloroform können solche Versuche ausgeführt werden, bei denen man Reinkulturen von Schimmelpilzen u. s. w. auf die Stärkegelatine impft. Hier bildet sich bei den stärkeverzuckernden Pilzen ein deutlicher, heller Saum um die heranwachsenden Mycelfäden.

Es ist erstaunlich, wie kleine Partikelchen mitunter schon genügen, um groſse helle Diffusionsfelder zu bilden. Der Kontrast zwischen Diffusionsfeld und der übrigen Gelatine wird besonders scharf, wenn man die Gelatine mit einer Jodjodkaliumlösung überschwemmt. Innerhalb der blaugefärbten Gelatine erscheinen die Diffusionsfelder als hellgelbe, durchsichtige Fenster. In ihnen ist also keine Stärke mehr vorhanden. —

Hebt man von der durchsichtig gewordenen Gelatine etwas ab und betrachtet es unter dem Mikroskop nach Zugabe von konzentrierter Schwefelsäure, so erscheinen wieder blaue Körner. Das von der Diastase unberührt gebliebene Cellulosegerüst des Stärkekorns ist es, welches diese Reaktion bedingt.

Interessant sind auch Versuche mit abgestorbener, nicht mehr keimfähiger Gerste; hier treten auch noch Diffusionsfelder auf, zum Zeichen, dafs noch Enzyme vorhanden sind.

Wir prüfen alle möglichen Dinge auf Diastasegegenwart, z. B. Hopfenblattstücke, Hopfensamen, Malzkeime, die verschiedensten Früchte resp. deren Säfte und dergleichen mehr.

Bei Querschnitten von rohen Gerstenkörnern erhält man auf der Gelatineplatte Diffusionsfelder, die nach Behandlung mit Jod sehr breite violetrot gefärbte Ränder aufweisen; bei dem gleichen Versuch mit Querschnitten von gekeimten Körnern sind diese Ränder nur ganz schmal. Wysmann hat sich das so zu erklären versucht, dafs das schneller diffundierende Enzym, die Maltase, die Stärkegranulose in Erythrodextrin umwandelt, später auch in Maltose.

Dieses Erythrodextrin verschwindet erst beim Herankommen der „Granulase", indem es durch diese in mit Jod sich nicht mehr färbendes Maltodextrin, dann weiter in Maltose verwandelt wird.

Rohe Körner hätten demnach wenig Granulase, dagegen reichlich Maltase.

Bei der Diastasewirkung auf Stärke treten aber aufser dem Erythrodextrin und dem Maltodextrin noch die sog. Leukodextrine auf. Sie werden so genannt, weil sie aus einem Stärkekleister, der eben soweit verzuckert ist, dafs keine Bläuung mit Jod mehr eintritt, bei Zugabe von 60%igem Alkohol als schneeweifse Flocken sich ausscheiden.

Dieses Leukodextrin geht nach der Ansicht von Beijerinck höchst wahrscheinlich aus der neben der Granulose im Stärkekorn vorhandenen Stärkecellulose hervor. Das Schicksal dieses Leukodextrins ist, dafs es in Glukose umgewandelt wird durch die Einwirkung eines Enzyms, das Glukase genannt wird.

Der Nachweis dieses Enzyms ist von Beijerinck mit grofsem Scharfsinn geführt worden mit Hilfe sehr einfacher Methoden, die sich sehr leicht im Laboratorium ausführen lassen. Auch wegen ihres hohen pädagogischen Wertes sollen sie hier kurz angeführt werden.

Der Beijerincksche Nachweis der Glukase.

Die Glukase verwandelt die Maltose in Glukose.

Da es Hefen giebt, welche die Glukose assimilieren und verzehren, die Maltose aber unberührt lassen, werden diese in einer Gelatineplatte sehr gut dort wachsen und eine Trübung durch die wachsenden Kolonien erzeugen, wo sich Glukose bildet. Man könnte aber hier auch daran denken, dafs die Enzyme selbst von den Hefen absorbiert und zum Wachstum verwertet werden. Das ist nach Beijerinck nun durchaus nicht der Fall. Bringt man nämlich in die Nähe eines kreisrunden

Diffusionsfeldes in einer Stärkegelatineplatte eine kräftige Hefenkolonie oder einen Impfstrich, dann dringt das Diffusionsfeld dennoch ungestört vorwärts. Wäre eine Absorbtion des Enzyms eingetreten, dann hätte der Kreis an dieser Stelle eine Einbuchtung erleiden müssen.

Läfst man in der Nährgelatine die Stickstoffquelle fort, unter Beibehaltung des Kohlehydrates, so ergiebt sich, dafs die Hefen (und Bakterien) das Enzym nicht als Stickstoffquelle benutzen können; läfst man das Kohlehydrat weg unter Beibehaltung der Stickstoffnahrung, so findet man, dafs das Enzym auch nicht als Kohlenstoffquelle dienen kann.

Das Resultat stimmt damit überein, dafs im tierischen Organismus das Enzym des Speichels, das Ptyalin, und die Pankreas-Diastase aus der Bauchspeicheldrüse mit dem Urin abgesondert werden, und dafs bei den höheren Pflanzen die einmal vorhandene Diastase sehr hartnäckig in dem Gewebe zurückbleibt und nicht assimiliert wird.

Als Glukosehefen, durch welche etwa entstandene Glukose zum Wachstum sogleich verbraucht wird, während Maltose und Dextrine unberührt bleiben, verwendete Beijerinck den Kahmpilz, S. apiculatus, S. fragrans, S. kefyr und die im holländischen Käse allgemeine Form S. tyricola. (Die beiden letzteren Hefen sind Laktosehefen: sie assimilieren Glukose, aber nicht Maltose, Dextrin und Stärke, sie vergären Laktose und Rohrzucker, doch fehlen diese Zuckerarten in den bei den Glukaseuntersuchungen in Betracht kommenden Präparaten.)

Diese Glukosehefen mischt Beijerinck bei einer Gelatinelösung von

10 % Gelatine
0,5 % Monokaliumphosphat
5 % Maltose resp. Dextrin resp. ½ % lösliche Stärke
0,25 % Asparagin resp. 1 % Pepton sicc.

Bei Verwendung des Kahmpilzes S. Mykoderma wählt man in obiger Lösung als Stickstoffquelle 0,5 % Chlorammon statt Asparagin oder Pepton.

Die Hefemenge mufs so gewählt sein, dafs die erstarrte Gelatineplatte eine nur ganz leichte Trübung zeigt. Diese letztere verstärkt sich bedeutend da, wo durch das aufgelegte Objekt die Maltose oder das Dextrin oder die Stärke in Glukose verwandelt wird. Es entstehen auf dem durchsichtigen Boden trübe Felder, als „Auxanogramme“ der betreffenden Hefen.

Haben wir lösliche Stärke angewandt, so findet nur in unmittelbarer Nähe der glukasehaltigen Teilchen eine Kolonienbildung statt, da die lösliche Stärke sehr langsam durch Diffusion zu dem Glukasepräparat gelangt und auch die Glukase selbst — ganz im Gegensatz zur Malzdiastase — äufserst wenig löslich und diffusionsfähig ist. Maltose diffundiert in der Gelatineplatte leicht zum Glukasepräparat und kehrt als Glukose zurück, unterwegs wird sie jedoch von den Hefen ver-

braucht. Die Kolonien bilden richtige Attraktionszentren für die neugebildete Glukose.

Mitunter ist es daher ratsam, das enzymatische Präparat sehr fein zu pulverisieren und das Pulver auf einen nicht zu eng begrenzten Fleck auf die Platte zu streuen. Man erreicht dann auch noch den beiläufigen Vortheil, dafs, wenn einzelne Bakterien im Glukasepräpart sich befinden, diese so weit voneinander entfernt zur Entwickelung kommen, dafs das Versuchsergebnis dadurch nicht getrübt wird.

Wegen seines schnellen und leichten Wachstums ist der Kahmpilz für solche Auxanogramme vor den anderen Glukosehefen vorzuziehen.

Jedoch macht Beijerinck darauf aufmerksam, dafs dieser auch Maltose assimilieren kann bei Gegenwart von Malzpeptonen — bei gewöhnlichem Pepton oder Asparagin oder Ammonsalzen wird die Maltose vom Kahmpilz nicht assimiliert. Diese eigenartigen Malzpeptone bilden sich erst beim Maischprozefs und verlieren auch durch das Kochen nicht die Eigenschaft, die Maltose assimilationsfähig für den Kahmpilz zu machen. Glukase selbst kann es nicht sein, da diese bei 70° C vernichtet wird.

Alle Dextrine werden durch Glukase in Glukose überzuführen sein, wenn auch schwieriger wie Maltose, so doch leichter wie lösliche oder verkleisterte Stärke. Frische Stärkekörner werden aufserhalb der Pflanze von der Glukase ebensowenig angegriffen als von der Diastase.

Um die vorübergehende Bildung eines Dextrins bei der Überführung löslicher Stärke in Glukose nachzuweisen, benutzt Verfasser wieder die auxanographische Methode bei folgender Anordnung.

Nachweis von einer vorübergehenden Dextrinbildung bei der Einwirkung der Glukase auf lösliche oder gekochte Stärke.

In einer Glasdose wird eine mit Saccharomyces ellipsoideus gemischte Gelatineplatte gegossen, jedoch so, dafs nur ein Halbkreis davon bedeckt wird. Diese Gelatine enthält 10% Gelatine, 1/2 lösliche Stärke, 1/4 Asparagin, 1/20 Kaliumphosphat.

Alsdann wird mit einer gleich zusammengesetzten Gelatine, die jedoch keine lösliche Stärke enthält, der andere Halbkreis ausgefüllt und dicht an der Grenzlinie 2 Felder mit dem Glukasepräparat bestreut. In dem ersten Halbkreis entsteht durch die Glukase aus der Stärke Glukose und infolgedessen ein Ellipsoideusauxanogramm. In dem anderen Halbkreis ändert sich vorläufig nichts; später erst bemerkt man, wie unter dem Glukasepulver ebenfalls ein Ellipsoideusauxanogramm halbmondförmig sich entwickelt. Das unter dem ersten Glukasefeld entstandene und in der Gelatine bis zum zweiten diffundierte Dextrin ist unterhalb des Glukasepulvers in Glukose umgewandelt worden. Da das Zwischenfeld kein Wachstum der Ellip-

soideushefe zeigt, geht hervor, dafs keine Maltose bei der Glukosebildung aus Stärke entsteht.

Ebenso leicht, wie das entstandene Dextrin durch die Glukase weiter in Glukose umgewandelt wird, wird es durch Maltase und Ptyalin auch in Maltose übergeführt.

Wird wie oben verfahren, jedoch mit der Abänderung, dafs die Stärkegelatine mit Kahmhefe vermischt wird, die stärkefreie Gelatine für den anderen Halbkreis aber mit S. ellipsoideus, so beobachtet man unter dem Glukasefeld auf der Kahmhefenseite nichts, da die entstandene Maltose von der Kahmhefe nicht zum Wachstum verwertet wird. Erst beim Hineindiffundieren in die Gelatine mit der elliptischen Hefe findet die Maltose Verwendung, was sich durch starke Trübung des Feldes erkennbar macht.

Vorkommen der Glukase.

Von tierischen Geweben wurden Blut, Pankreas und besonders Leber von Schweinen und Rindern etwas glukasehaltig gefunden. Auch menschlicher Speichel enthält Spuren von Glukase. In den Hefezellen fand Verfasser eine Glukase, welche Maltose in eine durch Mycoderma leicht assimilierbare Substanz umwandelt. Die Zymoglukase stirbt schon vollständig bei 55° C., während die Glukase der Gerste bis 66 resp. 70° C. erhitzt werden kann, ehe sie vernichtet wird. Allgemein ist das Vorkommen von Glukase bei den verschiedenartigsten Schimmelpilzen. Reismehl und Hafermehl sind an Glukase reich. In gewöhnlichen Grasblättern scheint sie zu fehlen; aus Maisblättern wurden jedoch glukasereiche Präparate erhalten, ebenso aus Maiswurzeln. Im Maiskeimling ist die Glukase nur spurenweise, im mehligen Teil des Endosperms gar nicht, im hornartigen Teil stark aufgespeichert. Granulose und Maltose fehlen hier vor der Keimung; letztere bildet sich auch nachher nicht.

Das Verhalten der Enzyme bei der Keimung.

Weizen, Roggen und Gerste verhalten sich identisch: das Endosperm dieser Körner enthält vor der Keimung nur Maltase. Während der Keimung beginnt eine sehr kräftige Bildung von Granulase (und wahrscheinlich auch Maltase) im Aufsaugeepithel des Schildchens, und diese Körper diffundieren in den Mehlkörper hinein. Im Verlauf der Keimung entsteht ebenfalls ein wenig Glukase, und zwar im Aufsaugeepithel des Schildchens wie in der Kleberschicht. Zu gleicher Zeit mit dieser Glukasebildung wird in letzterer und zwar in viel beträchtlicherer Menge Granulase produziert.

Maltasebildung in der Kleberschicht konnte nicht nachgewiesen werden.

Bei der Weiterentwicklung der Keimpflanze während des Mälzungsprozesses entsteht in den Geweben der Wurzeln und Blätter Rohrzucker, welcher durch gleichzeitig erzeugte Invertase später beim Maischen in Glukose und Lävulose übergehen kann, so dafs es verfehlt wäre, den nicht unbeträchtlichen Glukosegehalt der Würzen der Brauereien und Preſshefefabriken auf die Glukase allein zurückzuführen. Da die Getreideglukase kaum oder nicht diffundiert, so braucht man, um die Lokalisation derselben anzuzeigen, nur einen dünnen Querschnitt des Endosperms auf einen empfindlichen Kahmpilznährboden zu legen; schon nach 24 Stunden bekommt man ein Auxanogramm von der Form des Querschnitts, worin die eigentümlich gefaltete Kleberschicht sich aufs schönste durch kräftiges Kahmpilzwachstum hervorhebt infolge ihres besonderen Reichtums an Glukase.

Erhitzt man das Gemisch von Maltase und Granulase, wie es sich im Malz vorfindet, über 70° C. hinaus, so stirbt die Maltase ganz ab (schon bei 55° C. starke Schwächung derselben), die Granulase aber unterliegt einer chemischen Umwandlung, welche darin besteht, dafs deren Vermögen, aus Granulose Maltose zu bilden, stark beeinträchtigt wird, während die Eigenschaft, Dextrin zu erzeugen, nicht verändert wird. — Wenigstens gilt dies für die Gerstenmalzgranulase (bei Maismalz- und Buchweizenmalzgranulase ebenso wie bei Ptyalin wird durch das Erhitzen das Vermögen der Maltoseerzeugung viel weniger vernichtet).

Die Verflüssigung des Stärkekleisters ist nach Beijerinck eine Funktion der Granulase, nicht eines besonderen Enzyms. Der Maltase und Glukase kommt diese Fähigkeit nur in ganz geringem Mafse zu.

§ 18. Von der Kartoffel.

Die Kartoffelknollen bilden sich am Ende unter der Erde wachsender Triebe, an denen eine Mehrzahl verkümmerter Blättchen vorhanden sind, welche uns anzeigen, dafs wir es nicht mit einer Wurzel, sondern einem Stengelorgan zu thun haben. Auf jeder Knolle finden sich eine Menge „Augen“, das sind Achselknospen, welche bestimmt sind, im nächsten Jahre auszutreiben. Die Kartoffelschale besteht aus einer Anzahl dünnwandiger Zellen, deren Cellulosewände sich in „Suberose“, Korksubstanz, umgewandelt haben und so für Wasser undurchdringlich geworden sind. Nur an einzelnen Stellen erheben sich kleine Warzen, durch welche die zum Atmen der Zellen nötige Luft ein- und austreten kann. Diese Stellen heifsen „Lenticellen“. Unter der Schale befindet sich das Korkkambium, welches stärkefrei ist und die Aufgabe hat, für den Nachschub neuer Korkschichten zu sorgen. Von der Stelle aus, an welcher die Knolle an dem Trieb gesessen hat, verlaufen nach dem Innern mehrere

Gefäfsbündel mit spiralig oder ring- oder leiterförmig verdickten Leitungsröhren. Das Fleisch der Knolle ist noch sehr wasserreich (80 % und mehr), und die Zellen, welche neben viel Stärkekörnern auch noch Zellsaft und Plasma enthalten, sind noch lebend, so zwar, dafs sie beim Durchschneiden der Kartoffel neue Zellwände zu bilden vermögen. Indem die durchweg parallel der Schnittfläche entstandenen Wände verkorken, entsteht der sog. Wundkork, welcher der schnellen Eintrocknung vorbeugt. Das in gröfseren Mengen tödlich wirkende Alkaloid der Kartoffel,

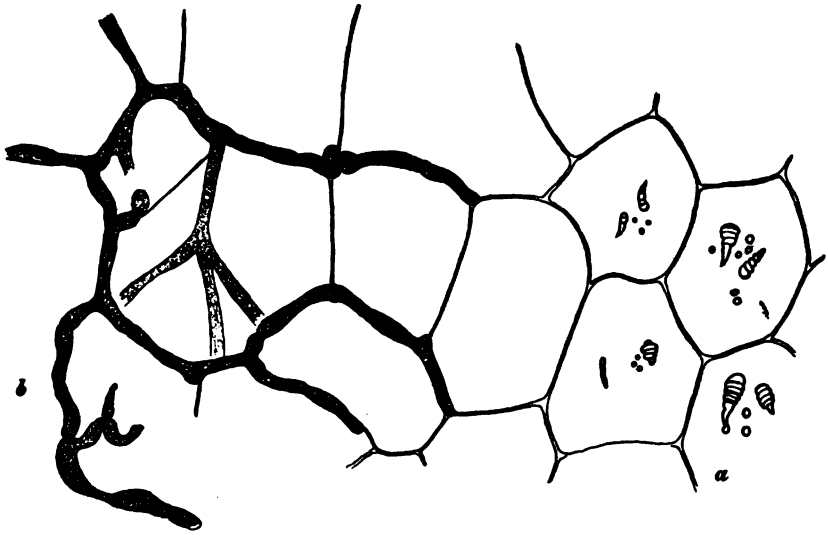


Abb. 56.

Rhizoctonia-Fäule der Kartoffel. Die mit Querwänden versehenen Rhizoctoniafäden (b) wachsen vorwiegend zwischen den Zellen. Die Stärkekörner der letzteren schmelzen trotzdem schnell ab; wie bei a. 195fach. Nach Frank.

das Solanin, kommt besonders in ergrünten Kartoffeln und solchen, die im Frühjahr bereits Triebe entwickelt haben, vor.

Uns interessieren hier hauptsächlich die Krankheitsformen der Kartoffel[1]).

Wenn die unter den Lenticellen liegende Kambiumschicht erkrankt, entsteht der Schorf. Die Ursache desselben sind jedenfalls bisher noch unbekannte Bodenbakterien. Man unterscheidet den Flach-, Tief-, Buckel- und den Buckel-Tiefschorf. In sterilisierte Erde gepflanzte Kartoffeln bleiben stets schorf-frei. Brunchorst glaubt einen Schleimpilz, Thaster einen Fadenpilz als Ursache annehmen zu sollen.

Der Kartoffelgrind oder die Rhizoctonia-Pocken sind

[1]) Die nachfolgenden Angaben sind dem vortrefflichen „Kampfbuch gegen die Schädlinge unserer Feldfrüchte“ von Frank, Verlag Paul Parey, Berlin 1897, entnommen.

schwarze Flecken oder grindartig harte Erhabenheiten auf der Schale, die aus einer dichten Verflechtung rotbrauner Pilzfäden bestehen, an denen jedoch Sporen nicht beobachtet werden. Der Pilz wird Rhizoctonia Solani (Kühn) genannt; er ist verhältnismäfsig unschädlich, da er meist nur auf der Schale verbleibt.

Gelangt er jedoch ins Innere der Knolle, dann erzeugt er die Rhizoctonia-Fäule, bei welcher die Kartoffel sehr rasch, von dem einen Ende aus fortschreitend, wässerig weich wird infolge des Verschwindens der Stärkekörner aus den Zellen. Farblose, plasmareiche septierte Pilz-

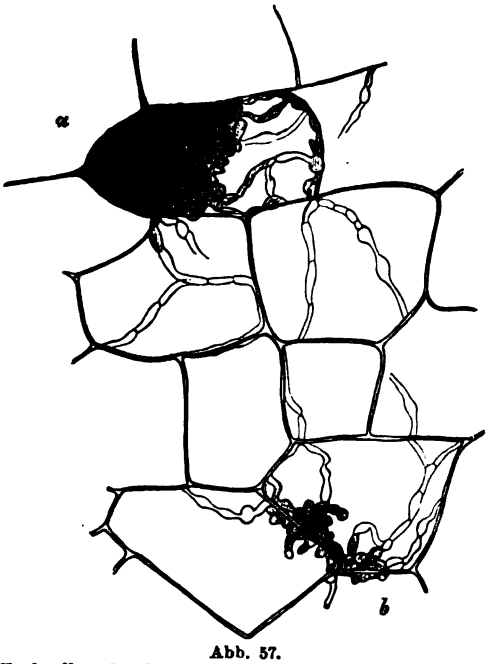


Abb. 57.
Korkzellen der Kartoffelschale von Fäden des Phellomyces sclerotiophorus durchwuchert; bei a bereits ein schwarzzelliges Sclerotium entstanden, bei b in Bildung. Nach Frank.

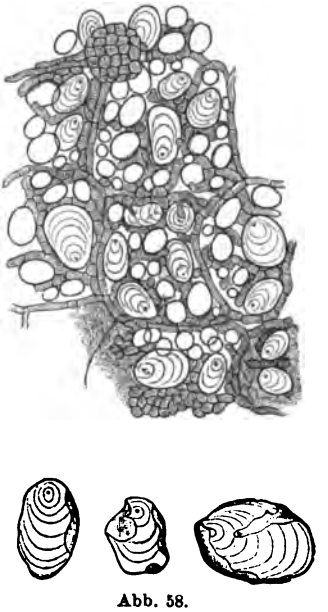


Abb. 58.
Phellomyces-Fäule in den stärkeführenden Zellen unter der Korkschicht. Unten Stärkekörner, die von dem Pilz angebohrt sind. 195fach. Nach Frank.

fäden von 6—9 μ Dicke wachsen dabei zwischen und innerhalb der Zellen, deren Stärkekörner unter dem Einfluſs eines Enzyms von aufsen abschmelzen und vor dem gänzlichen Verschwinden oft nur noch als dünne spindel- oder nadelförmige Gebilde sich darstellen. Es ist Frank gelungen, diese Nafsfäule der Kartoffel durch Einbringen von Rhizoctoniapocken in kleine, absichtlich gemachte Wundlöcher gesunder, pockenfreier Kartoffeln künstlich hervorzurufen.

Die Phellomyces-Fäule nimmt auch von einem in der Schale schmarotzenden Pilz, Phellomyces sclerotiophorus, seine Entstehung, dessen farblose, septierte, 1,8—3,5 μ dicke Mycelfäden durch die Korkhaut

durchwachsen und das darunter liegende Gewebe töten. Das Plasma erscheint alsdann stark gebräunt. Die Stärke wird nur wenig angegriffen, dafür aber die Zellwandungen. Die Kartoffel wird „trockenfaul".

Die Fusarium-Fäule ist eine „Trockenfäule", hervorgerufen durch den lange bekannten und als Fusarium Solani bezeichneten Pilz. Wehmer ist es gelungen, durch Übertragung dieses Pilzes auf gesunden Kartoffeln diese Krankheit hervorzurufen. Die 3,6 μ dicken Mycelfäden bringen die Zellwände zum Verschwinden, lassen die Stärkekörner aber ziemlich unversehrt, bis auf dünne Bohrlöcher. Auf der Schale bildet der Pilz weifse Polster in denen die sichelförmigen Sporen in Unmengen abgeschnürt werden.

Die Wurmfäule oder Nematodenfäule wird hervorgerufen durch ein mit dem Tylenchus devastatrix, der den Stock des Getreides und des Klees verursacht, übereinstimmenden Fadenwurm. Derselbe wuchert unter der Schale und erzeugt mehr oder weniger eingesunkene Stellen, an denen das Plasma der zerstörten Zellen sich bräunt.

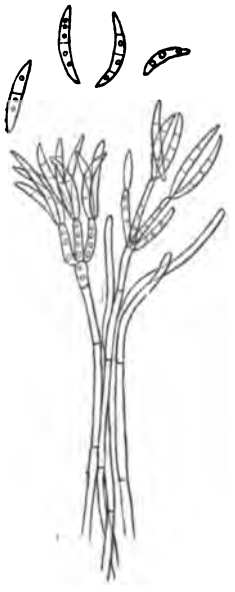


Abb. 59.
Fusarium solani. 320fach.
Nach Frank.

Die Stärkekörner bleiben unversehrt. In dem nicht gebräunten nächsten Umkreise der Nematodennester verlieren die Zellen meist ihr Stärkemehl, zeigen dafür aber ihr Plasma, welches in völlig lebendem Zustande sich befindet, auffallend vermehrt und den Zellkern vergrörsert.

Nach neueren Untersuchungen von Wehmer ist die bisher allgemein verbreitete Ansicht, dafs der sog. Krautfäulepilz (Phytophthora infestans), welcher auf dem Kartoffelkraut sich als zarter weifser Rasen auf der Blattunterseite entwickelt, die Ursache des partiellen Braunwerdens von Schale und Fleisch sei, nicht sicher genug begründet.

Auch teilt er weiter nicht die Ansicht, dafs die Nafsfäule der Kartoffeln direkt durch eine Bakterieninfektion zu stande komme. Er nimmt vielmehr an, dafs die Knolle nur dann den Bakterien zum Opfer fällt, wenn durch Nässe, ungenügenden Luftzutritt und Wärme das Kartoffelgewebe bereits krankhaft verändert ist. Erst in diesem Falle treten die Bakterien in Thätigkeit und machen sie nafsfaul.

Hierbei sind besonders zwei Bakterien beteiligt, die Wehmer als Bacillus I (vielleicht mit dem Heubacillus, Bacillus subtilis, identisch) und als Amylobacter Navicula bezeichnet. Der Bacillus besitzt nur die Fähigkeit, die Intercellularsubstanz zu lösen; erst beim Hinzukommen des Amylobacter beginnt auch die Auflösung der Zellwände. Der faulige

Zerfall des Knollengewebes mit der Stärke als Rest durchläuft also die beiden Phasen der „Pektin-“ und der „Cellulosegärung“ oder der „breiigen“ und der „schleimigen“ Naſsfäule. Beim Fehlen des Amylobacter kommt nur erstere zu stande. Wehmer hat gezeigt, wie man gesunde Knollen experimentell, z. B. durch Überschichten mit Wasser nach Willkür „braunfleckig“ machen kann. Die braunen Flecken entwickeln sich dann späterhin an der Luft zu der Erscheinung einer „trockenen Fäule“ oder bei etwas geänderter Versuchsanordnung zu der Naſsfäule.

Auſser den genannten Bakterien wurden häufig noch beobachtet verschiedene Micrococcusspecies, Streptococcen, Bacterium termo, Plectridiumarten, Spirillumarten, Bacterium merismopedioïdes u. a. m.

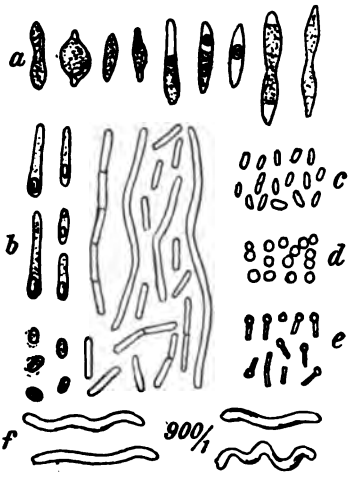


Abb. 60.
Bakterien aus faulen Kartoffeln nach Wehmer.
a Amylobacter Navicula. b Bacillus II. c Bacterium vulgare. d Streptococcus I. e Bacillus III (Plectridium). f Spirillum Undula.

§ 19. Einiges über den Hopfen.

In der Brauerei finden die ausgereiften Hopfendolden Verwertung. Mikroskopisch ist hier nicht viel zu studieren. Die gelben Lupulinkörnchen bieten nur bei schwacher Vergröſserung gute Bilder und womöglich bei auffallendem Licht.

In den Zeichnungen der Abb. 3 Seite 17 sind dargestellt: die männliche und weibliche Blüte. Die männlichen Pflanzen sollen bekanntlich in unseren Hopfengärten am besten ganz fehlen. Weiter findet sich dort eine schematische Darstellung der Entwicklung der Drüsenhaare. — Bei der Untersuchung von zusammengefegten Lupulinkörnern findet man häufig Überreste von den verschiedenen Milbenarten und Blattläusen vor, die auf den Hopfenblättern gelebt hatten.

Jnteressante mikroskopische Objekte sind auch die Fruchtkörper der Mehltaupilze, die auf dem Hopfenblatt parasitisch leben; desgleichen die ambosartigen stark verkieselten Kletterhaare, mittelst deren sich die Ranken an der Stange festhalten.

Arbeiten im Laboratorium.

§ 20. Die Ausstattung eines Betriebslaboratoriums für mikroskopisch-biologische Untersuchungen.

Über das wichtigste Ausstattungsstück eines gärungsphysiologischen Laboratoriums, das Mikroskop, ist schon das Nötige im 1. Abschnitt gesagt worden, ebenso über die Wahl des Zimmers in Bezug auf Beleuchtung.

Hier möge zunächst etwas über die Ausstattung des Mikroskopiertisches gesagt werden. Derselbe muſs vor allem genügend Licht vom Fenster bekommen und womöglich mit Gas- und Wasserleitung versehen sein oder solche in unmittelbarer Nähe haben. Sehr zweckmäſsig ist auch das Vorhandensein eines kleinen Ausgusbeckens, sowie eines kleinen Regales zur Unterbringung der gebräuchlichsten Reagentien. — Ein dunkler Anstrisch der Tischplatte ist einem anderen wegen der Schonung der Augen vorzuziehen. Wortmann erwähnt folgende Tischbeize als vortrefflich:

1. Lösung: 100 g Kupfersulfat,
50 „ Kaliumchlorat,
615 „ Wasser.
2. Lösung: 100 „ salzsaures Anilin,
40 „ Chlorammonium,
615 „ Wasser.

Die beiden Lösungen werden dreimal wechselweise aufgetragen, wobei man jedesmal den Anstrich erst trocknen läſst, ehe man die andere Lösung aufstreicht.

Zuletzt nimmt man mit lauwarmem Wasser die unregelmäſsig grünliche Schicht weg und reibt nach erfolgtem Trocknen mit einem Läppchen mit gekochtem Leinöl, dann mit Sandpapier, bis die Farbe eine mattschwarze geworden ist. Schlieſslich wird noch einmal mit Wasser und Seife abgewaschen.

Ist man gezwungen, in einem Zimmer zu mikroskopieren, das durch den Gang von Maschinen und dergleichen groſsen Erschütterungen ausgesetzt ist, dann muſs man das Mikroskop auf einer Schaukel befestigen, die von elastischen Drahtspiralen getragen wird.

Um den Tisch leicht sauber halten zu können, empfiehlt es sich, die verschiedenen kleineren Gegenstände nicht auf die Tischplatte selbst zu stellen, sondern sie in gröſsere viereckige Glasschalen, wie sie der

Photograph zum Entwickeln und Waschen der Glasplatten braucht, unterzubringen.

Kleinere viereckige Glasschalen eignen sich vortrefflich zum Weglegen der schmutzigen Objektträger und Deckgläschen. Für erstere ist reinweifse Farbe des Glases und das sogenannte englische Format zu empfehlen. Für Deckgläschen empfiehlt sich die Gröfse von 18 mm und eine Dicke zwischen 0,14 bis 0,2 mm. Die Dicke derselben kann man bei gut sortierten Gläschen leicht selbst bestimmen, indem man z. B. 50 Gläschen aufeinander legt und die Dicke der Schicht mifst, dann durch 50 dividiert.

Sehr häufig wenden wir hohlgeschliffene Objektträger an von dem Format der gewöhnlichen flachen; doch ist es hierbei wichtig, solche Deckgläschen zu verwenden, welche in der Diagonale ebenso lang sind, wie die Schmalseite des Objektträgers.

Zum Aufkitten der Deckgläschen auf letzteren nehmen wir ge-

Abb. 61. Rahmen zur Aufbewahrung von Präparaten. Nach Lindner.

wöhnliche gelbe Vaseline, die nicht zu hart und auch nicht parfümiert sein darf.

Zum Aufbewahren der Präparate, namentlich der hohlen Objektträger, ist ein Präparatenkasten erforderlich. Obenstehendes Bild zeigt eine vom Verfasser für den Handgebrauch sehr zweckmäfsig befundenen Rahmen zur Aufbewahrung der Präparate.

Zum Auftragen der Vaseline bedürfen wir eines kleinen Pinsels. Dieser wird mit der anhaftenden Vaseline kurze Zeit über die Flamme eines Brenners, am besten über eine kleine Sparflamme gehalten, zwecks Verflüssigung der Vaseline und zur Sterilisation derselben. Die Vaseline wird noch flüssig aufgetragen.

Zum Ausglühen der Platindrähte, die ebenfalls unentbehrlich sind, sowie der Zeichenfedern, mit welchen wir die Nährflüssigkeiten auf die Deckgläschen auftragen, bedürfen wir eines Bunsenbrenners oder einer Spirituslampe (gewöhnliche Berzeliuslampe). Ersterer

soll so eingerichtet sein, dafs man eine sogenannte Sparflamme erzeugen kann. —

Wo Leuchtgas nicht zu haben ist, kann man sich auch mit Gasolin behelfen, das in besonderen Apparaten (Firma Auchner, Berlin N., Templiner Str. 3, und P. v. Richter, S. W., Blücherplatz 3) mit Luft gemischt und in Gasform mit dieser in die Leitung gelangt. Die Flammen besitzen eine grofse Heizkraft.

Gesorgt mufs dafür werden, dafs die Temperatur der Laboratoriumsräume nicht zu kalt werde, da sich sonst das Gasolin in den Röhren kondensiert. Vorsicht beim Öffnen des Hahnes, damit das flüssige Gasolin sich nicht über den Tisch ergiefst und sich entzündet.

Zum Putzen der Objektträger, Deckgläschen und auch der Glaslinsen ist das sogenannte Josefpapier oder Putzpapier sehr geeignet.

Abb. 62. Fläschchen mit Wattepfropf zum Aufbewahren steriler Würze.

Abb. 63. Flasche mit Würzegelatine; letztere ist mit „schräger Fläche" erstarrt.

Abb. 64. Pasteursches Kölbchen.

Gewöhnliches Filtrierpapier mufs uns ebenfalls immer zur Hand sein, ebenso Etiketten, Bleistifte, Fettstifte (zum Schreiben auf Metall oder Glas), Tinte und Feder, Radiergummi, flüssige chinesische Tusche, Zeichen- und Schreibpapier, ein Rasiermesser mit chinesischem Streichriemen, Präpariernadeln, Pincetten, Fläschchen für Farblösungen, Natronlauge, Alkohol, Jod, Jodkaliumlösung, ein Fläschchen mit Benzin zum Reinigen fettig gewordener Gläser oder Linsen, ein weiches Leinwand- oder Lederstück.

Für Pasteursche Kolben (Abb. 64) hat man Pappringe oder Korkunterlagen im Gebrauch; praktisch ist aber auch das Aufhängen derselben an eisernen Stangen, die an der Wand angebracht sind und mit Gummischlauch oder Löschpapier umkleidet sind. Bei dem Ankauf von Pasteurschen Kolben achte man darauf, dafs die

Impfstutzen und zugehörigen Schläuche zu den Impfstutzen der gröfseren Kolben, in welche übergeimpft werden soll, passen. Ein enger Gummischlauch auf engem Stutzen läfst sich nur schwierig auf einen weiten Stutzen ziehen. Das gebogene Rohr des Pasteurschen Kolbens sei ebenfalls nicht zu eng; es ist nämlich zumeist vorteilhaft, die über der Hefe stehende vergorene Flüssigkeit durch dasselbe auszublasen, um die Hefe allein zurückzubehalten. Hierzu ist allerdings ein Luftfilter an dem geraden Stutzen nötig.

Abb. 65. Luftfilter für Pasteursche Kolben u. dergl.

Die nebenstehende Abb. 65 läfst erkennen, wie ein solches mit Watte gestopft werden mufs. Beiderseits verschliefsen kleinere Wattepfropfen das Rohr.

Um Würze in dem Kolben aufzubewahren, kochen wir sie vorerst darin; dazu benötigt man eines eisernen Dreifufsgestelles und einer eisernen Schale, die mit feinem Sand gefüllt wird. In diesen Sand, der dünn geschichtet ist, stellt man den Kolben, bevor man mit dem Erhitzen durch einen untergestellten Gasbrenner beginnt. Wenn der Dampf ungefähr 1/4 Stunde aus dem gebogenen Rohr und dem Gummischlauch am Impfstutzen herausgeströmt ist, schliefst man letzteren mit einem Glas- oder Metallstöpsel oder mit einem Wattefilter.

Da man häufig auch gröfsere Quantitäten Würze gebraucht, ist es zweckmäfsig, sich solche in gröfseren kupfernen Apparaten vorrätig zu halten; besonders geeignet dazu sind die grofsen Trommeln des Lindnerschen Reinzuchtapparates. Man halte sich in einer Trommel gehopfte, in einer anderen ungehopfte Würze vorrätig. Für gewisse Fälle ist es zweckmäfsig, sich von der Würze der gröfseren Trommel eine gewisse Menge auf Flaschen abzufüllen und darin zu pasteurisieren.

In Abb. 66 sehen wir ein Hefeversandgefäfs. Es faist ungefähr 2 Liter und ist wie der Pasteurkolben mit 2 Stutzen versehen, die jedoch durch Hähne verschliefsbar sind. Die Stutzen tragen Gummischläuche und diese wieder einen Metallstöpsel resp. ein Wattefilter.

Abb. 67 zeigt einen 10—12 Liter fassenden Kupferkolben, dessen Ansatztufen aber keine Hähne enthalten. Der umgebogene obere Stutzen trägt Gummischlauch und Wattefilter.

Diese Kolbenform dient hauptsächlich für solche Kulturen, die eine reichliche Durchlüftung bekommen sollen. Am unteren Ende des Kolbens sehen wir einen kurzen Stutzen, der ein Gummischlauchstück trägt; in dieses ist am anderen Ende ein T-Rohr eingeführt. Der

Schlauch rechts an diesem (c) trägt ein Wattefilter, in das der Druckluftschlauch eingeführt ist: an den Schlauch links schliefst sich ein gebogenes Glasrohr, weiter ein kurzes Schlauchstück und dann der obere kurze Kolbenstutzen. Verfasser, der diese Anordnung zuerst ausprobiert hat, konnte selbst bei sehr schwachem Druck von der Druckluftleitung eine ziemlich kräftige Durchlüftung feststellen. Es wird der Weg, den die Luftblasen durch die Flüssigkeit nehmen, hier bedeutend verlängert, und auch die Oberflächenberührung ist gröfser.

Ist eine Durchlüftung nicht besonders von nöten, dann werden die beiden kurzen Stutzen einfach mit je einem Schlauchstück versehen, und wir haben dann das Modell des Karlsberg-Kolbens vor uns.

Die grofsen Kupferkolben eignen sich sehr gut znm Sterilisieren und Aufbewahren von gröfseren Flüssigkeitsmengen, z. B. Wasser, Würze, Zuckerlösungen.

Während die Pasteurschen und Karlsberg-Kolben über direkter Flamme erhitzt werden können, mufs für andere Kulturgefäfse

Abb. 66.
Hefeversandgefäfs.

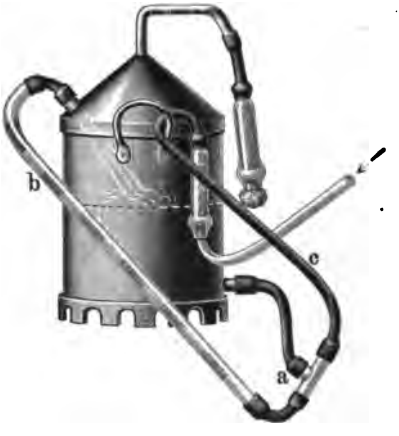


Abb. 67. Grofser Kupferkolben (12 l Inhalt) mit Durchlüftungsvorrichtung. Nach Lindner.

die trockne Hitze und der gespannte oder auch der strömende Dampf zur Sterilisation in Anspruch genommen werden.

Im ersteren Falle ist ein Sterilisationsschrank zweckmäfsig. In der nachstehenden Abbildung (Abb. 68) sehen wir ihn mit einem Drahtkorb und mit trocknen Reagenzgläschen, die mit Watte verstopft sind, beschickt. Zur Sterilisation von sogenannten Petrischalen oder Glasplatten bedient man sich passender eiserner Büchsen (Abb. 69 u. 70).

Die kleineren Glasgefäfse, z. B. die 100 oder 200 g-Fläschchen, die wir sehr häufig verwenden können, werden ebenso wie die Glascylinder und Gärflaschen einfach in den Schrank gestellt und dann erhitzt.

Die Glascylinder brauchen wir häufig für Luftuntersuchungen; bei ihnen wird noch eine Papierkappe (doppelte Lage Filtrierpapier) auf den Wattepfropf gestülpt, ehe das Erhitzen beginnt.

Durch zweistündiges Verweilen bei einer Temperatur von 100—150° C. werden alle Keime abgetötet, die an dem Glase oder an der Watte hafteten. Letztere beginnt zuletzt sich schon etwas gelblich zu färben; dies ist das sicherste Anzeichen, dafs der Cylinder sterilisiert ist.

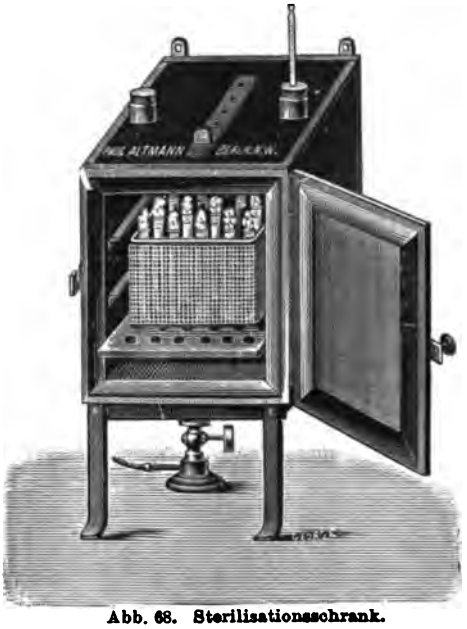


Abb. 68. Sterilisationsschrank.

Der Sterilisationsschrank ist doppelwandig; die Flamme darunter schlägt gegen eine kupferne Platte. Die Heizgase gehen zwischen der doppelten Wandung in die Höhe und entweichen durch Löcher in der äufseren Decke. Zu vermeiden ist zu starkes Erhitzen, da sonst die Watte anfängt zu sengen und die innere Wandung der Glasgefäfse sich mit den mehr oder weniger antiseptisch wirkenden Produkten der trocknen Destillation beschlägt.

Das Sterilisieren solcher Gefäfse, die bereits mit Würze oder dergl. gefüllt sind, nimmt man am besten in einem Kochschen Dampftopf (Abb. 71) vor. Der Dampftopf ist mit Filz oder mit Asbest bekleidet. Im Innern befinden sich nur ein oder mehrere Siebböden, auf welche die zu sterilisierenden Gefäfse gestellt werden können.

Abb. 69. Eiserne Büchse zur Sterilisation von Petrischälchen.

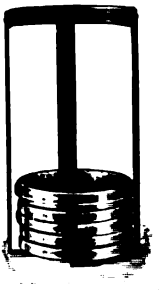


Abb. 70. Gestell für die Petrischälchen.

Handelt es sich um die Sterilisierung langer Glasröhren, dann ist die Verwendung des in Abb. 72 dargestellten Apparates geboten, der eine einfache Blechkanne ist, mit Stutzen und Wasserstandsanzeiger. Auch die vom Verfasser oft mit Vorteil benutzten Sedimentierröhren (Abb. 73) können durch Anschlufs an einen solchen Apparat leicht sterilisiert werden. Es gehört

jedoch jedesmal ein steriles Wattefilter dazu, damit bei Beendigung des Dämpfens die eindringende Luft keimfrei gemacht werden kann.

Für besondere Fälle ist es angezeigt, die Sterilisation von Flüssigkeiten besser in einem Autoklaven bei Anwendung von gespanntem Dampf vorzunehmen. Das Manometer an denselben besitzt oft eine Reguliervorrichtung, welche bei zu hohem Druck die Zuleitung von Gas vermindert, bei zu niedrigem verstärkt. Indem man auf verschieden hohen Druck einstellen kann, ist man dessen überhoben, den Apparat beständig zu überwachen.

In den Autoklaven stellen wir z. B. Pasteur-Kolben, Erlenmeyersche Kölbchen, die wir zum Studium der Hautbildung der Hefen gut gebrauchen können.

Abb. 71.
Kochscher Dampftopf.

Die Thermostaten oder Brutschränke sind gröfsere Behälter, die auf einer bestimmten Temperatur gehalten werden. Die Wandungen sind doppelt und führen zwischen sich Wasser. Die Gaszufuhr zu den untergestellten Brennern wird durch Thermoregulatoren erhöht oder vermindert, je nachdem die Innentemperatur des Schrankes gefallen oder gestiegen ist. Die Bauart derselben ist sehr verschieden, jedoch wird überall für eine doppelte Gaszufuhr gesorgt, durch eine breite Öffnung und durch eine ganz kleine. Wird erstere durch den steigenden Quecksilberfaden geschlossen, dann strömt nur noch eine geringe Gasmenge zum Brenner. Nun sinkt die Temperatur im Thermostaten allmählich und gleichzeitig auch der Quecksilberfaden. Das Gas strömt nun wieder durch die gröfsere Öffnung.

Unterhalb der Thermostaten gebraucht man oft einen eigentümlichen Brenner. In die Flamme ragt eine nach abwärts gekrümmte Metallzunge, welche aus Eisen- und Messingblech besteht. Das untere Ende ist umgebogen und dient als Auflager für den mit einem Gewicht belasteten Hebel. Verlischt aus irgend einer Veranlassung die Flamme, so kühlt sich die Metallzunge ab und nähert sich dem Brenner. Bei dieser Bewegung verliert der Hebel seine Unterlage und stellt sich vertikal. Dabei wird aber die Gasleitung geschlossen und das weitere Ausströmen von Gas verhindert.

Wo man sich ohne Gas behelfen mufs, wird man die Anschaffung

eines Thermostaten, wie ihn Sartorius-Göttingen liefert, in Betracht ziehen müssen; bei demselben kann man nämlich auch Petroleum oder Spiritus als Heizquelle benutzen. Durch eine sinnreiche Vorrichtung werden die Heizgase bei zu niedriger Temperatur gezwungen, Röhren zu durchstreichen, welche im Wassermantel liegen, während bei zu hoher

Abb. 72. Dampfentwickler mit langer Kulturröhre.

Temperatur die Heizgase senkrecht in der Verlängerung des Lampencylinders in die äufsere Luft entweichen.

Zur Aufnahme einer gröfseren Anzahl Gärflaschen sind die oben besprochenen Thermostaten zu klein; hier schafft man sich Ersatz durch gröfsere Gärbecken oder Gärtöpfe, die mit Wasser gefüllt werden. Da es sich um ziemliche Wassermengen handelt, können sich Schwankungen in der Aufsentemperatur nur sehr langsam mitteilen. Versieht man sich noch mit einer durch einen Thermoregulator bedienten Heizflamme, dann ist man im stande, konstante Temperaturen zu erzielen.

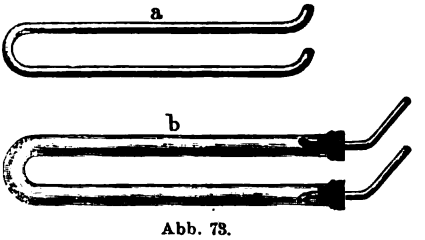


Abb. 73.
Sedimentierröhren (nach Lindner).

Für alle Thermostaten und Gärbecken empfiehlt es sich, die Heizflammen durch Asbest- oder Blechwände vor Zugluft zu schützen. Da die Flammen auch die Nacht über brennen, ist es Vorschrift, das Gas sowohl dem Thermoregulator wie dem Brenner durch Bleirohre zuzuführen. Von gröfstem Wert zur Durchführung biologischer Arbeiten ist der Besitz eines sog. Panumschen Thermostaten. Ein solcher bietet in seinen vielen Fächern eine Reihenfolge verschiedener Temperaturgrade, da er einerseits von einem Eiskasten, andererseits von einem Wärmekasten begrenzt ist. In dem letzteren ist ein Thermoregulator nötig. Angefertigt werden solche u. a. von der Firma de la Sauce & Klofs, Berlin N., Usedomstr. 8.

Ebenso nötig wie die Thermostaten sind Kühlräume resp. Eisschränke für ein Laboratorium.

Von grofsem Vorteil ist es, wenn man im Laboratorium Druckluft zur Verfügung hat. Wir können sie sehr gut benutzen, wenn es sich darum handelt, aus Pasteurschen Kolben oder aus den Karlsberg-Kolben das Bier herauszudrücken, ferner für die Zwecke der Durch-

Abb. 74. Thermostat für Petroleumheizung nach Sartorius-Göttingen.

lüftung unserer Kulturen, z. B. der gärenden Würze im kleinen Lindnerschen Reinzuchtapparat oder im Durchlüftungskolben (vergl. Abb. 67).

Auch ein Wasserstrahlgebläse zum Ansaugen von Luft wird man nicht gern entbehren. Es kann z. B. beim Lindnerschen Reinzuchtapparat benutzt werden, ferner für Filtrationszwecke, z. B. zum Abfiltrieren der Hefe. Um Flüssigkeiten keimfrei zu filtrieren, benutzt man neuerdings häufig die Pukallschen Porzellanfilter.

Mitunter braucht man auch Luftpumpen, z. B. bei Luftuntersuchungen. Hier handelt es sich auch darum, das Luftquantum zu messen.

Petri hat eine Luftpumpe konstruiert, die mit einem Zählapparat versehen ist. Petri filtriert angesaugte Luft durch ein Sandfilter. Der Sand wird in kurzen Röhren durch kleine Drahtkappen festgehalten.

Abb. 75.
Einfacher Titrierapparat.

Abb. 75a.
Automatischer Titrierapparat.

Für die Untersuchung der Hefen auf Sporen hat man Gipsblöcke nötig, die in besonderen Blechformen gegossen werden und die man sich zweckmäßig vorrätig hält.

Ein sehr wichtiger Apparat für jedes Laboratorium ist eine kleine Handcentrifuge. Sie gestattet z. B. aus Würze oder Bier oder Wasser in kürzester Zeit alle spezifisch schwereren Partikelchen (Hefezellen u. s. w.) am Boden, die spezifisch leichteren an der Oberfläche zu konzentrieren.

Abb. 76.
Einhornsches Gärröhrchen.

Zu Säurebestimmungen in Würzen und Maischen sind sehr zweckmäßig die in obenstehenden Abbildungen wiedergegebenen Apparate.

Für kleinere Gärversuche ist das Einhornsche Gährröhrchen sehr gut verwendbar, namentlich wo es sich um Unterscheidungen von Unter- und Oberhefe handelt, die sich gegen Melitriose (Raffinose) im allgemeinen ungleich verhalten.

Nachstehend gebe ich noch eine Zusammenstellung der zur Ein-

richtung eines botanischen Laboratoriums benötigten Apparate aus dem Katalog der Glasbläserei des Institutes für Gärungsgewerbe, Berlin N. 65, Seestrafse.

Einrichtung eines botanischen Laboratoriums.

1 Mikroskop.
12 hohle Objektträger.
12 gewöhnliche Objektträger.
1 Schachtel Deckgläschen.
1 Etui für Objektträger.
1 Pincette aus Stahl.
1 Büchse Vaseline nebst Pinsel.
1 Paar Glasdoppelschalen dazu.
1 Schachtel Federn.
4 Halter dazu.
12 Petrischalen mit Gummiring.
1 Blechbüchse für Petrischalen.
6 Pipetten mit Gummistopfen und Probierglas.
6 Luftcylinder.
1 doppelwandiger Sterilisierschrank mit Fufs.
1 Bunsenbrenner dazu.
1 Thermometer 0—250° C. dazu.
1 Kochscher Dampftopf mit Einsätzen.
1 grofser Bunsenbrenner dazu.
1 emaillierter Topf.
1 Einsatz dazu.
1 Dreifufs dazu.
1 Vesuv-Spiritusbrenner (wo kein Gas vorhanden).
1 kg Gelatine.
24 grofse eckige Flaschen.
1 Heifswassertrichter.
1 Trichter dazu.
1 2-Liter-Kochkolben.
1 kg Watte.
24 Probiergläser.
1 kleines und 1 grofses Probierglasgestell dazu.
100 Bogen Filtrierpapier.
1 Buch Putzpapier zum Reinigen der Deckgläschen.
1 starke Platinnadel im Glasstab eingeschmolzen.
1 Gestell mit Fläschchen für aqua dest., Natronlauge, Jodlösung u. s. w.
1 Glasglocke aus braunem Glas zum Bedecken des Mikroskopes.
1 Titrierapparat mit Normal-Natronlauge.
1 Pincette für Deckgläschen.
1 Spirituslampe aus Kupfer oder 1 Bunsensparbrenner.
1 m Gasschlauch (starker).
100 kleine Würzefläschchen (10—20 ccm Inhalt).
1 Thermostat mit Thermoregulator.
1 kleiner Lindnerscher Reinzuchtapparat mit Zubehör.
6 grofse Pasteurkolben.
6 kleine Pasteurkolben.
3 Dreifufsgestelle mit Sandbad.

Ausrüstung für besondere Zwecke.

a) Tropfenkultur zur Untersuchung von Würze und Wasser auf Keimgehalt.

1 kleines Probierglasgestell.
12 Probiergläser.
6 Petrischalen mit Gummiring.
1 Büchse dazu.
6 Probierglaspipetten mit Probiergläsern.
1 Vesuvlampe für Spiritus oder 1 Bunsensparbrenner.
1 Sterilisationsschrank.

b) Tröpfchenkultur zur Untersuchung von Würzen, Bieren, Maischen, Hefen auf Gegenwart fremder Keime.

1 Etui für Objektträger nach Lindner.
24 hohle Objektträger.
12 gewöhnliche Objektträger.
2 Schachteln Deckgläschen.
1 Platindraht im Glasstab eingeschmolzen.
1 Pincette.
1 Spirituslampe oder 1 Bunsensparbrenner.
1 Büchse Vaseline mit Pinsel.
1 Paar Doppelschalen dazu.
1 Schachtel Zeichenfedern.
4 Halter dazu.
Etiquettes.
Putzpapier.

c) Zur Herstellung von Nährgelatine.

½ kg Gelatine.
1 2-Liter-Kochkolben.
1 Wasserbad.
1 Einsatz.
1 Dreifuſs.
1 Trichter, eventuell auch 1 Heiſswassertrichter.
Filtrierpapier.
1 kg Watte.
1 Kochscher Dampftopf.
50 Reagenzgläschen resp. vierkantige Fläschchen resp. 100 g-Fläschchen.

d) Zur Luftuntersuchung.

6 Rollcylinder.
Fleischsaftgelatineröhrchen.
Würzegelatineröhrchen.
1 Sterilisationsschrank, doppelwandig.
1 Dreifuſs dazu.
1 Bunsenbrenner oder 1 Vesuvlampe für Spiritus, eventuell Apparate unter c) zur Selbstbereitung der Gelatine.

Gebrauchsanweisung für den Hefezählapparat.

Um Hefezählungen in gärenden Würzen und Maischen auszuführen, bedienen wir uns besonders konstruierter Hefezählapparate. Da für den

Gebrauch derselben speciellere Angaben notwendig sind, möge hier eine ausführliche Gebrauchsanweisung folgen.

Der Hefezählapparat (Abb. 77) besteht aus einem Objektglas (a), einem darauf festgekitteten, mit einem runden Ausschnitte versehenen Deckgläschen von 0,2 mm Dicke (b) und einer auf das Deckgläschen genau passenden Glasplatte (c.)

Durch Auflegen der Glasplatte auf das Deckgläschen wird ein allseitig umschlossener Raum hergestellt, welcher zur Aufnahme der zu untersuchenden Flüssigkeiten dient. Innerhalb des Ausschnittes ist das Objektglas durch eine feine Mikrometerteilung in Quadrate von 0.05 mm Seitenlänge geteilt.

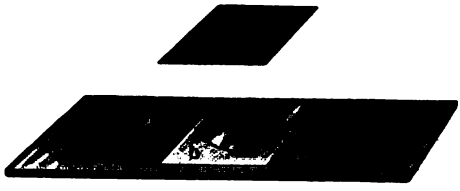


Abb. 77. Hefezählapparat.

Wenn man mit Hilfe dieses Apparates Hefezählungen in Kunsthefen, Würzen oder Maischen vornehmen will, so sind noch folgende Gegenstände erforderlich: 1. ein kleiner Cylinder zum Abmessen von 50 ccm, 2. ein $^1/_2$ Liter enthaltender Mefskolben, 3. ein Trichter, 4. ein Glasstab.

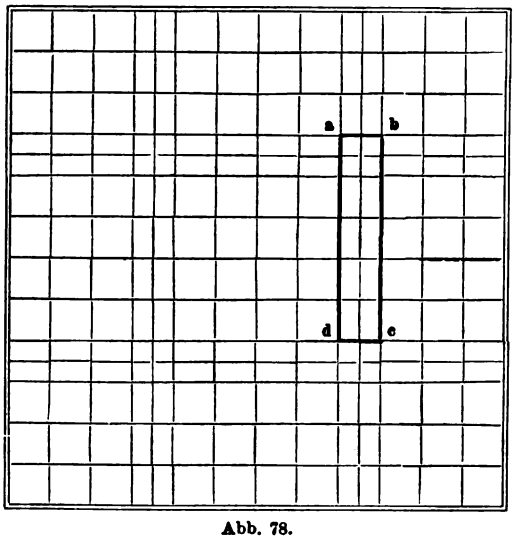


Abb. 78.

Die Ausführung des Versuchs geschieht in folgender Weise: Da die Hefen in gärenden Flüssigkeiten immer sehr ungleich verteilt sind, so mufs vor der Probenahme die Maische anhaltend und kräftig durchgerührt werden. Von der abgenommenen Maischprobe werden in dem Mefscylinder 50 ccm abgemessen, aus diesem mit Hilfe des Trichters in den Mefskolben gebracht, mit Wasser nachgespült und bis zur Marke zu $^1/_2$ Liter aufgefüllt. Diese Verdünnung der Maische mit Wasser auf das Zehnfache des ursprünglichen Volumens ist nicht zu umgehen, weil die Maische wegen ihrer dicken und undurchsichtigen Beschaffenheit zur mikroskopischen Beobachtung nicht geeignet ist. — Die Zählung der in dieser verdünnten Flüssigkeit enthaltenen Hefezellen wird dann mit Hilfe des anfangs beschriebenen Apparates ausgeführt.

Bei Hefe, welche sich zu gröfseren Klumpen zusammenballt, wird

man gut thun, dem Wasser so viel Natronlauge, Schwefelsäure, Salzsäure oder Weinsäure zuzusetzen, bis die Flocken sich zerteilen.

Nach starkem Umschütteln der verdünnten Maische bringt man einen Tropfen davon mit Hilfe des Glasstabes innerhalb des Ausschnittes des Deckgläschens, schiebt rasch die Glasplatte darüber, wobei darauf zu achten ist, dafs kein Luftbläschen in dem abgeschlossenen Raum enthalten ist, und nimmt nach einigen Minuten, wenn die suspendierten Hefezellen sich zu Boden gesetzt haben, die Zählung vor, die am besten bei 300facher, aber auch noch bei 150facher, nicht aber geringerer Vergrösserung sich bequem ausführen läfst. Es handelt sich darum, die durchschnittliche Zahl der innerhalb eines Quadrates der oben beschriebenen Teilung sichtbaren Hefezellen zu bestimmen. Jedes Quadrat der Teilung bildet die Grundfläche von 0,0025 qmm eines Prisma, dessen Rauminhalt demnach 0,0005 kbmm beträgt. Dies ist die Volumeinheit des Hefezählapparates.

Um die mittlere Zahl der in der Volumeinheit vorhandenen Hefezellen zu bestimmen, führt man die Zählung nicht in einzelnen Quadraten, sondern in Reihen nebeneinanderliegender Quadrate aus. Man benutzt zur Zählung zweckmäfsig solche Reihen von Quadraten, die, wie aus vorstehender Abb. 78 ersichtlich ist, von einer Linie in der Mitte durchschnitten sind und sich dadurch für das Auge leicht markieren. Man zählt also z. B. die in den 5 Quadraten a b c d enthaltenen Zellen und nimmt die Zählung alsdann noch an 5 anderen entsprechenden Stellen des Präparates vor, so dafs also in einem Präparat im ganzen 30 Quadrate durchgezählt werden. Zu beachten ist, dafs oftmals Zellen nicht innerhalb, sondern auf den Grenzlinien der durchzuzählenden Felder liegen. Man verfährt in diesem Falle in der Weise, dafs man z. B. in dem Felde a b c d die auf den Seiten a b und b c liegenden Zellen mitzählt, die auf den Seiten a b und c d liegenden Zellen unberücksichtigt läfst.

Alsdann macht man ein zweites Präparat, verfährt in derselben Weise, und fährt damit so lange fort, bis die mittlere Zahl der in 5 Quadraten liegenden Hefezellen sich nicht mehr erheblich ändert. Im allgemeinen genügen 4 Präparate.

Beispiel.

In 5 Quadraten enthaltene Zellen	Präparat 1	Präparat 2	Präparat 3	Präparat 4
„	16	21	17	19
„	16	17	22	19
„	11	28	16	15
„	14	18	21	22
„	20	23	23	25
„	23	29	24	20
durchschnittlich in 5 Quadraten	16,6	22,6	20,5	20

Präparat	Mittlere Zahl der Hefezellen in 5 Quadraten	
1	16,6	
1+2	19,6	
1+2+3	19,9	
1+2+3+4	19,9 oder 20	Gesamtdurchschnitt der ganzen Zählung.

Wenn man nun berücksichtigt, dafs die vorstehend gefundene Zahl die in 5 Quadraten enthaltenen Zellen angiebt und dafs die Maische in 10facher Verdünnung angewendet worden ist, so ist die Zahl der in der Volumeinheit der ursprünglichen Maische enthaltenen Zellen $\frac{20 \times 10}{5} = 40$ Hefezellen.

§ 21. Herstellung und Aufbewahrung der Nährsubstrate.

Wir füllen eine gröfsere Menge kleiner 10-Gramm-Fläschchen etwa zur Hälfte mit Würze, zupfen aus Watte kleine Pfropfen zurecht und stellen die damit verschlossenen Gläschen in einen Blechbehälter mit einem leiterförmig durchbrochenen Boden. Man packt den Behälter ziemlich voll mit den Fläschchen und stellt oder hängt ihn dann in einen Kochschen Dampftopf. Wir überzeugen uns an dem Wasserstandsrohr, ob genügend Wasser vorhanden ist, und erhitzen bis zum Kochen; setzen alsdann den Deckel auf und lassen durch die Öffnung desselben den Dampf $^1/_2$ Stunde lang strömen. Bei gehopfter Bierwürze genügt diese Zeit, um sie haltbar zu machen; bei ungehopfter Bierwürze oder anderen Nährlösungen dämpft man länger oder wiederholt dies gar an mehreren, aufeinanderfolgenden Tagen je $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde. Ob wir unsern Zweck erreicht haben, offenbart sich uns dadurch, dafs nach Verlauf von 5—6 Tagen die Nährlösung unverändert geblieben ist. Ganz frisch sterilisierte Fläschchen sollte man nie verwenden, sondern immer nur solche, welche schon mehrere Tage gestanden haben. Es kann nämlich vorkommen, dafs solche Fläschchen in dem Dampftopf nicht genügend vom Dampf bestrichen worden sind. Aufser gehopfter resp. ungehopfter Bierwürze — damit arbeiten wir gewöhnlich — können wir uns noch andere Nährlösungen vorrätig halten, z. B. Weifsbierwürze, Malz- oder Fleischextraktlösungen, Traubenmost, Pflaumendekokt, Urin, Abkochungen von Pferde-, Kuhdünger, von Hefe, von Heu u. dgl. m.

Für Hefekulturen empfiehlt Hayduck folgende Nährlösung: 100 g Rohrzucker, 2,5 g Asparagin und 20 ccm mineralische Nährlösung mit Leitungswasser zum Liter aufgefüllt. Die Minerallösung enthält im Liter 50 g saures phosphorsaures Kali und 17 g schwefelsaure Magnesia.

Der Rohrzucker darf auf dem Filter keine Bläuung zurücklassen, da sonst die Hefenthätigkeit durch diese Stoffe (Ultramarin) beeinträchtigt wird. Ist das Leitungswasser nicht kalkhaltig, dann giebt man 0,1 g Chlorcalcium zu. Die Hefeabkochungen bereitet man in der Weise, dafs man 50—100 g gepreſster Hefe in 1 Liter Wasser oder, wenn man z. B. Dextrose-Hefewasser bereiten will, in 1 Liter 10prozentiger Dextroselösung längere Zeit aufkocht und zum Schluſs durch ein Faltenfilter filtriert. Haben wir nicht genügend kleine Fläschchen vorrätig, um sämtliche Nährlösung unterzubringen, dann füllen wir sie auf gröſsere, vielleicht auf 100—200-Gramm-Fläschchen ab und sterilisieren diese. Moste, Bierwürzen u. s. w. wird man sich oft in gröſseren Mengen so vorrätig halten wollen, daſs man jederzeit ein kleines Quantum entnehmen kann, ohne eine Infektion für das Ganze befürchten resp. letzteres wieder aufkochen zu müssen. Hier dürfte das Pasteurisieren dieser Nährlösungen in gewöhnlichen Bier- oder Weinflaschen sehr vorteilhaft sein. Die Korken müssen jedoch sorgfältig ausgesucht sein. Wollen wir die Nährsubstrate in gelatinöser Form haben, dann müssen wir Gelatine zufügen. Wir benutzen dazu feinste französiche Gelatine; da dieselbe in Form dünner, farbloser Blätter in den Handel gebracht wird, müssen wir dieselbe erst mit der Schere zerkleinern. Man giebt gewöhnlich pro Liter Flüssigkeit 60—100 g Gelatine (im Sommer noch mehr) zu; diese läſst man bei 40—50° C. erst eine Zeit lang quellen. Bevor man weiter erhitzt, giebt man noch etwas geschlagenes Hühnereiweiſs unter tüchtigem Umschütteln zu. Der Kolben bleibt dann so lange im Wasserbad bei 100° C. stehen, bis Bruch eingetreten ist. Dann filtriert man durch ein Faltenfilter im Heiſswassertrichter und füllt in kleinere oder gröſsere Gefäſse ab und sterilisiert diese im Dampftopf, wie oben bei den Nährlösungen angegeben. Um in jedes Gefäſs die gleiche Menge abmessen zu können, eignet sich sehr gut der Treskowsche Fülltrichter. Statt in kleine 20-Gramm-Fläschchen füllt man die Nährgelatine auch in Reagenzgläser ab, in denen man sie nach dem Sterilisieren gewöhnlich mit schräger Fläche erstarren läſst. Man legt zu diesem Zweck die Röhrchen mit dem oberen Ende auf einen Stab oder Gasschlauch. Will man die Gelatine in gleichmäſsig dicker Schicht erstarren lassen, dann muſs man Reagenzgläschen verwenden, die vor dem Gebläse noch besonders bearbeitet sind. Man erhitzt zunächst vorsichtig das obere Ende des Reagenzgläschens in einer weiten Flamme, giebt dann Stichflamme und richtet diese auf die eine Seite des Röhrchens, bis das Glas weich geworden und sich sattelförmig einsenkt. Dieser Sattel bildet einen Damm, über welchen die Gelatine selbst bei horizontaler Lage des Gläschens nicht hinaus kann.

Eine speciellere Beschreibung erfordert die Herstellung der Kochschen Fleischsaftgelatine, die für die Bakteriologen ein un-

entbehrliches Requisit bildet. Man läfst 0,5 kg gehacktes mageres Rindfleisch 24 Stunden lang im Eisschrank mit 1 Liter Wasser auslaugen, preſst es darauf durch einen Beutel und füllt das Filtrat zum Liter auf, fügt unter tüchtigem Schütteln 10 g Pepton, 5 g Kochsalz und 100 g Gelatine hinzu und erhitzt langsam in einem Wasserbad. Man schüttelt öfter, damit die Gelatine sich gut löst, und erhält dann längere Zeit das Wasserbad im Kochen, bis Bruch eintritt; ca. $^3/_4$stündiges Verweilen im Dampftopf dürfte ebenso zu empfehlen sein. Nachher neutralisiert man mit konzentrierter Sodalösung und giebt einen kleinen Überschufs davon, bis das Lackmuspapier eine schwache Bläuung zeigt. Man filtriert eine kleinere Menge in ein Reagenzglas und kocht auf; entstehen noch Niederschläge, dann mufs die Gesamtmasse noch einige Zeit gekocht werden. Allzulanges Kochen allerdings ist ungünstig, da die Gelatine dann schwer zum Erstarren kommt. Will man die langwierige Arbeit des Fleischauspressens umgehen, dann kann man sich auch des käuflichen Fleischextrakts bedienen (ca. 1 g pro Liter Wasser). Dem Pepton kann auch noch Zucker zugesellt werden.

Um die Gelatine widerstandsfähiger gegen höhere Temperaturen zu machen, ersetzt man sie zum Teil durch Agar-Agar.

Letzteres kann auch ganz die Gelatine vertreten. Marpmann empfiehlt für die meisten Spalt- und Hefepilze einen Nährboden, der folgendermafsen bereitet wird: 100 g Agar-Agar, kalt abgewaschen, werden in einem Kessel mit 5 Liter Wasser erwärmt, dann werden 200 g Caraghen-Pulver zugesetzt, das in kaltem Wasser angerieben ist; dann Kochen bis zur völligen Auflösung. Beim Erkalten auf 50° C. Zusatz von 10 Hühnereiern, deren Eiweifs mit Eigelb geschlagen ist. Nach 5—10 Minuten langem Kochen und Filtrieren durch einen Leinwandbeutel Zusatz von 1% Glycerin, Einfüllen in 5-Literkolben und Sterilisieren. Zum Gebrauche verflüssigt man im Dampfapparat und filtriert heifs durch einen grofsen Wattebausch.

Um Würze im Pasteurschen Kolben keimfrei zu machen, bedient man sich nicht des Kochschen Dampftopfes, sondern man stellt die Kolben auf Sandbäder, die durch untergestellte Brenner erhitzt werden. Man nehme in die eisernen Schalen nicht mehr Sand als nötig ist, um den Kolben zum Stehen zu bringen. Das Kochen der Würze wird hier manchmal sehr stürmisch vor sich gehen und mufs man dann durch kleinere Flammen (Auflegen einer Drahtkappe) die Hitze mäfsigen. Zu hohe Flammen sind auch im Anfang nicht rätlich; es überhitzt sich die Wandung des Kolben oberhalb des Flüssigkeitsrandes zu stark und kann dabei der Kolben leicht springen. Zum Einfüllen der Würze wolle man auf den Schlauch des seitlichen Stutzens einen kleinen Glastrichter aufsetzen. Würzetropfen, die am Glase herabgelaufen sind, wische man sauber weg; sorge überhaupt dafür, dafs der Sand im Teller

nicht naſs wird oder Würze bekommt, damit er nicht klumpenweis zusammenbäckt. Der Sand muſs fein gesiebt und frei von gröberen Stücken sein. Man lasse nach Eintritt des Kochens 15 Minuten lang den Dampf aus dem Schlauch austreten; flambiere nachher einen Glas- oder Metallstöpsel und verstopfe das Schlauchende so, daſs der Stöpsel nicht über 1 cm tief im Schlauch steckt. Nachher lasse man aus dem gebogenen Rohr den Dampf noch 15 Minuten herausströmen. Wir nehmen den Kolben nun vom Sandbad und setzen ihn auf einen Pappring oder eine Korkunterlage; beim Erkalten beobachten wir das Spiel des Wassertropfens in dem unteren Teil des umgebogenen Rohres. Nach dem Erkalten flambieren wir das Rohr und verschlieſsen es mit etwas Watte oder Asbest; weiterhin hängen wir den Kolben am besten an einer fingerdicken, mit einem Gummischlauch überzogenen Eisenstange auf.

Stopfen der Reagenzgläschen. Wir zupfen aus einer Lage Charpiebaumwolle (die aber nicht salicyliert zu sein braucht) gröſsere Flocken ab, legen sie über einen Finger und streichen sie allseitig glatt. Wir drehen den Pfropf in das Reagenzglas und suchen dabei die Bildung von Kanälen am Rande zu vermeiden. Der Pfropf muſs unten glatt sein. Beim Erhitzen im Sterilisierschrank richten wir uns nach dem Aussehen der Watte bei der Beurteilung, ob die Gläser sicher steril sind. Watte, die ihre rein weiſse Farbe mit einem schwach gelblich-braunen Ton vertauscht hat, ist genügend sterilisiert.

In ähnlicher Weise wie die Reagenzgläser sterilisieren wir alle mit Wattepfropfen versehenen Glasgefäſse: Kölbchen, Erlenmeyersche Kolben, Gärflaschen, Luftfilter, Luftcylinder. Alle Glassachen müssen trocken in den Sterilisierschrank (Trockenschrank) gebracht werden, sonst springen sie. Die Glasplatten für die Plattenkulturen, sowie die Petrischalen bringen wir am besten in gröſserer Anzahl in geeignete eiserne Büchsen, die wir dann in den Trockenschrank einführen.

Mitunter hat man nicht Zeit, um das Sterilisieren in der gewöhnlichen Weise abwarten zu können. Man hilft sich dann auf einfache Weise, indem man die betreffenden Glasgefäſse, z. B. Reagenzgläser mit Wattepfropf, Glasplatten, Objektträger, Deckgläschen, Petrischälchen, Gipsblöcke mit einer Gasflamme behandelt. Auch durch längeres Verweilen im kochenden Wasser kann man die Sterilisation z. B. von Gipsblöcken, Leinwandbeuteln (zum Hefeversand) erreichen.

Kulturversuche und Untersuchungsmethoden.

§ 22. Die Vegetation eines Pferdeapfels.

Wir beschaffen uns aus dem Pferdestall frische, jedenfalls noch nicht oberflächlich angetrocknete Pferdeäpfel und bringen diese unter eine Glasglocke. Nach einigen Tagen sprieſsen viele Hundert kleine, zarte Pilzfäden hervor, und nach einigen weiteren Tagen ist das anfänglich unschöne Bild ganz verdeckt von einem herrlichen, hoch aufgeschossenen Wald von haardünnen, rein weiſs- und seidenglänzenden Pilzfäden, denen allenthalben wie Tau kleine Wassertröpfchen anhängen. Auf der Spitze eines jeden Fadens ist das anfänglich schwach gelbliche kugelförmige Köpfchen mehr grau bis schwarz geworden. Stellen wir die Glocke in einer dunkleren Ecke hin, so sehen wir später sämtliche Fäden gegen das Fenster gerichtet wie ein vom Wind niedergehaltenes Ährenfeld. Hierbei wird es vorkommen, daſs einzelne der reifen Köpfchen die Wandung der Glasglocke berühren und dabei platzen. Der Inhalt flieſst aus und bleibt an dem Glase haften, zumal anfänglich noch Wasser aus der Spitze des Fadens ausgepreſst wird. Später, wenn die Luft der Glocke nicht mehr feucht genug ist, trocknet die Sporenmasse ein und erscheint die betreffende Seite der Glaswandung wie mit lauter Fliegenschmutz besäet. Die Pilzfäden, im vorliegenden Fall als Fruchtträger entwickelt, erreichen oft eine Höhe von 10 cm und darüber. Lüften wir einige Augenblicke die Glocke, so tritt durch das rasche Verdunsten des Wassers aus den dünnwandigen Fäden sofort ein Welken und ein Zusammensinken des Pilzwaldes ein. Bedeckt man wieder, so erholt sich derselbe wieder ziemlich rasch. Die Pilzspecies, die hier gewöhnlich vorliegt, ist der Mucor Mucedo. Wenn später die hohen Pilzwucherungen schon etwas in sich zusammengesunken sind, kündigt sich auf dem Grunde eine neue Generation an: Lufthyphen von gröſserer Dicke, die am Scheitel eine schwarze Kappe erhalten, unterhalb deren eine perlenartige Anschwellung sichtbar wird. Es ist der Pilobolus oder Bombenwerfer. Seine artilleristischen Fähigkeiten werden wir in den folgenden Tagen bei Betrachtung der Glasglocken gewahr werden.

Bei kurzem Lüften der Glasglocke und bei genügender Annäherung des Gesichts passiert es nicht selten, daſs wir mehrmals von kleinen Bomben getroffen werden. Wir haben das Gefühl, als ob kleine Sandkörnchen uns berührt hätten. Eine Unmenge schwarzer Kappen, zumeist in der Gröſse von Fliegenaugen, finden wir auch an den Seitenwänden oder der Decke der Glasglocke angeklatscht; es sind dies die Sporenbehälter oder Sporangien des Pilzes.

Später hört auch das Hervorsprieſsen von Pilobolusfruchtträgern auf; der Mucorwald sinkt in sich immer mehr zusammen, und die Oberfläche des Nährsubstrates kommt allmählich wieder zum Vorschein. Hin und wieder beobachten wir auch gröſsere Pilzformen, so den Coprinus stercorarius, mit langem weiſsen Stiel und schirmartig aufgespanntem Hut. Der Hut trägt unterhalb zarte Lamellen, die nach einigen Tagen sich beiderseits schwarz färben infolge der massenhaften Abstoſsung bräunlich gefärbter, eirunder Sporen.

In den Überresten von dem zuerst entstandenen Mucorwald sehen wir jetzt auch einige merkwürdige Gebilde auftreten. Die Fruchtträger des Mucor bekommen an verschiedenen Stellen weiſsflockige, später bräunlich sich färbende Ansätze. Wir zupfen einen derartig besetzten Fruchtträger mit einer Pincette ab und bringen das Ganze unter das Mikroskop. Wir erkennen hier, daſs die Flocken ein merkwürdig regelmäſsig geformtes Geäst darstellen, dessen Enden kugelige Sporen tragen. Zwischen den gabligen Verzweigungen ragen borstenförmige Äste hervor. Wir haben hier ein Chaetoeladium vor uns, das parasitisch auf Mucor wächst. Mitunter erscheinen flockige Ansätze gleich beim Entstehen des Mucorwaldes. Die Flocken stellen ein regelmäſsig dichotomisch verzweigtes Geäst dar; an den Endigungen sitzen kleine, 2—3 Sporen enthaltende Sporangien. Auch hier scheint es, als ob ein Mucorast von einem Parasiten befallen wäre; es ist dem aber nicht so, das Ganze stellt eine Thamnidiumart vor.

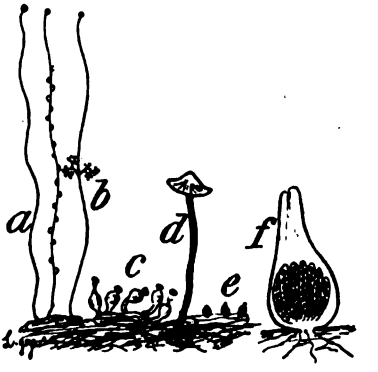


Abb. 78a.
Besonders charakteristische Pilze auf dem Pferdeapfel (schematisch).
a Mucor Mucedo. b Thamnidium elegans. c Pilobolus crystallinus. d Coprinus stercorarius. e Sordaria fimiseda. f Letztere im Durchschnitt mit dem sporenführenden Ascis.

In den ausgepreſsten Wassertropfen, die an den Sporangienträgern hängen, und an denen häufig Sporangien mit ihren Sporen platzen, findet man häufig ganze Kolonien von Fadenwürmern vor, namentlich eine Species mit zart geringelter Leibeshaut und sehr spitz auslaufenden langen Schwänzen.

Wir lernen noch eine interessante Pilzform kennen, die Sordaria fimiseda; sie erscheint als letztes Glied in der Reihenfolge der Pilzvegetationen, sich offenbar mit dem begnügend, was die Vorgänger an Nährstoffen noch übrig gelassen haben. Die Sordaria erscheint in Form kleiner, schwarzer, birnenförmiger Höcker, mit dem breiteren Teil auf den kleinen Strohfasern aufsitzend. Die Menge dieser schwarzen Körperchen kann oft derartig anwachsen, daſs der Pferdeapfel zuletzt ganz schwarz aussieht. Die schwarzbraune Hülle ist sehr brüchig, wenngleich ziemlich

fest. Im Innern liegen, von einem Punkt des Bodens ausstrahlend, eine Unzahl langer Schläuche mit je 8 grofsen, bei der Reife braun gefärbten Sporen. Bringen wir einen solchen Fruchtkörper unversehrt unter das Deckglas und lassen dann Wasser zufliefsen, so können wir den Vorgang der Sporenentleerung sehr gut verfolgen. An der schlauchförmigen Spitze der Birne befindet sich eine Öffnung, aus der nacheinander die sporenhaltigen Schläuche hervortreten. Der Pilz ist ein Repräsentant aus der Familie der Askomyceten, der Schlauchsporenpilze, zu denen wir auch die Saccharomyceten, die Hefepilze, rechnen. Bezüglich der Anzahl der Sporen in den Schläuchen fällt uns auf, dafs fast durchweg deren acht vorhanden sind. In einzelnen Schläuchen ist die Bildung der Sporen aus dem Plasma noch deutlich wahrnehmbar. Dafs die Sporen an der Spitze des Schlauches entleert werden, darauf deutet schon der dort befindliche schmale, von dickwulstigen Wandungen umgebene Kanal hin. Auch durch Auflösen der Schlauchsubstanz können die Sporen noch in Freiheit gesetzt werden.

Alle Pilzkeime, welche auf dem Pferdeapfel zur Entwicklung gekommen sind, haben den Durchgang durch den Darmkanal des Pferdes unbeschadet überstanden. Aufser Schimmelpilzen werden im Pferdeapfel auch noch andere Organismem, Hefen, Bakterien, Pilztiere, Fadenwürmer, Getreidekörner u. s. w. in lebendem Zustand angetroffen werden. Was speciell Getreidekörner anlangt, so sieht man nicht selten schon bei dem Ablauf der Mucorvegetation die Blattkeime von Getreidekörnern sich an das Licht emporarbeiten. Bei der mikroskopischen Untersuchung werden wir zwischen den Fasern des Pferdeapfels auch Bakterien und Hefen, namentlich Torulahefen, öfters antreffen.

§ 23. Beobachtungen bei Gerstenkeimversuchen.

Wir verschaffen uns irgend eine Gerste und lassen diese auf feuchtem Fliefspapier oder in einem Reinkeschen Keimapparat langsam auswachsen. Besonders schnell stellt sich die Entwicklung von Schimmelpilzen ein, wenn eine gröfsere Anzahl Körner verletzt sind. Wir treffen auch hier wieder Mucorarten an, unter ihnen den durch besonders schnelles Wachstum ausgezeichneten Mucor stolonifer mit verhältnismäfsig kurzen Fruchtträgern (die zu mehreren strahlenförmig von einem Punkt hervorschiefsen) und ziemlich dicken, schwarzen Köpfen. Ein grofser Teil der Körner überzieht sich mit einem grünen Pilzüberzug, der entweder von dem Penicillium glaucum oder dem Aspergillus glaucus oder clavatus gebildet ist. Einzelne Körner bekommen weifse bis rötliche Überzüge; der Pilz, dem sie entstammen, ist für gewöhnlich das Fusisporium moschatum, so benannt wegen der Fähigkeit, in Getreideinfusen moschusartige Verbindungen zu erzeugen. Manchmal beobachtet man auch auf der Oberfläche der Körner dunkel-

braune bis dunkelgrüne Fäden, die eine lockere Wolle um das Korn spinnen. Es ist das Mycelium einer Alternaria-Art; die Fäden gliedern an den Enden oder an kurzen Seitenansätzen vielzellige braune bis grünliche Sporen ab, die unten bauchig abgerundet sind, oben dagegen spitz auslaufen.

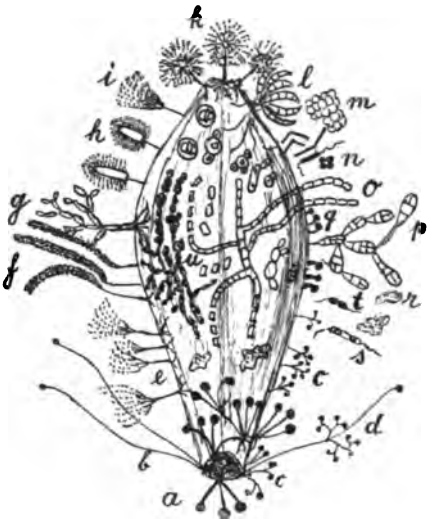


Abb. 79.
Auf keimendem Gerstenkorn häufiger vorkommende Vegetationen (schematisch).
a Mucor stolonifer. b Mucor Mucedo. c Mucor racemosus. d Thamnidium elegans. e Penicillium-Art. f Citromyces-Art. g Cladosporium. h Aspergillus clavatus. i Aspergillus Oryzae, oder glaucus. k Aspergillus albus. l Fusisporium moschatum. m Sarcina maxima. n Pediococcoccus acidi lactici, Milchsäurebacillen, bewegl. Bacillus. o Oidium lactis. p Alternaria-Art. q Schleimpilz (Physarum leucophaeum). r Amöben. s Heubacillus. t Bacterium termo und Dematium pullulans; auf der Spelze verteilt noch Saccb. anomalus, ellipsoideus, Torula und Kahmhefe.

Während wir bei den bisherigen Kulturen immer nur die Lufthyphen und die Fruchtträger mit ihren charakteristischen Formen kennen lernten, werden wir bei Gelegenheit einer nunmehr vorzunehmenden Kultur auch das Wurzelsystem der Pilze in seinem Wachstum und in seinen charakteristischen Eigenschaften etwas näher kennen lernen.

Wir füllen eine 60—70 cm lange weite Glasröhre mit geweichter Gerste voll, verstopfen beiderseits mit durchbohrtem Gummistopfen, durchlüften vielleicht noch einige Zeit und lassen dann wochenlang die Röhre liegen. Wir finden alsdann fast immer die Wandungen so mit Schimmelfäden besetzt, dafs man die Körner im Innern gar nicht mehr sieht. Die Glasröhre bekommt beinahe das Aussehen einer polierten Säule von buntem Marmor. Beim Ausschütten einer solchen Röhre, das oft wegen der starken Verfilzung der Körner schwierig ist, beobachten wir oft eigenartige Erscheinungen des Pilzwachstums, veranlafst durch den teilweisen Luftabschluſs. Die Pilzfäden, welche an der Wandung gewachsen waren, haften an dieser so fest, dafs sie nur mit der Bürste oder mit Schrot herauszubekommen sind.

Abb. 80.
Pilz, auf amerikanischem Weizen beobachtet, sammetschwarze Überzüge bildend.

Eine Folge des festen Anklebens ist auch, dafs die Farben der Pilze viel lebhafter erscheinen, als wenn sie wie gewöhnlich auf irgend einem Substrat wachsen.

Besonders farbenreiche Bilder bekommt man auch in sogenannten Rollkulturen bei Luftuntersuchungen.

§ 24. Die Reinkultur der Schimmelpilze. Die Tröpfchenkultur.

Wir wählen uns von den Schimmelpilzen, die wir auf Malz, auf Pferdeäpfeln oder bei Luftuntersuchungen angetroffen haben, zunächst eine Mucorart aus. Bei der Herstellung des mikroskopischen Präparates, das wir uns zur nochmaligen Orientierung über den Bau der kleinen Köpfchen, die auf den dünnen Stielen sitzen, anfertigen, bemerken wir, dafs die kugeligen Behälter, in denen die kleinen, ebenfalls kugeligen Sporen sich befinden, leicht zerplatzen und so letztere in Freiheit gelangen lassen. Bei längerem Verweilen der Sporen in der Flüssigkeit beobachten wir ferner an ihnen eine beträchtliche Gröfsenzunahme. Ehe wir mit der Platinnadel ein zweites Mucorköpfchen von der Kultur abheben, stellen wir uns ein Uhrglasschälchen mit etwas abgekochtem Wasser zurecht. Beim Eintauchen des Köpfchens achten wir darauf, ob es zerplatzt; thut es uns den Gefallen nicht, dann zerdrücken wir es mit der Nadel. Nun geben wir noch einige Tropfen einer Nährlösung, Mistabkochung, Pflaumendekokt oder Würze zu und lassen eine halbe Stunde das Schälchen bedeckt stehen. Wir flambieren einen hohlen Objektträger, tragen mit dem Pinsel einen Vaselinring auf und bedecken die Höhlung mit einem ebenfalls flambierten Deckgläschen. Mit einer spitzen Zeichenfeder oder Schreibfeder, die in der Flamme kurze Zeit ausgeglüht und nachher in der Luft abgekühlt wurde, tauchen wir jetzt in die sporenhaltige Flüssigkeit und tupfen einen kleinen Tropfen auf die untere Seite des Deckgläschens. Die mikroskopische Untersuchung, die wir mit schwacher Vergröfserung jetzt vornehmen, giebt uns Auskunft, wie viel Sporen in dem Tröpfchen vorhanden sind und wie viel Nährflüssigkeit ungefähr noch dem Schälchen zugemessen werden mufs,

Abb. 81. Anlage einer Töpfchenkultur. Ansicht von oben. Der Objektträger ist auf dem Tisch liegend zu denken.

um nur eine Spore im Tröpfchen zu erhalten. Bei der zweiten Probe bringen wir gleich eine gröfsere Anzahl von Tröpfchen auf das Deckglas. Diejenigen Tröpfchen nun, die nur eine Spore aufweisen, markieren wir uns mit Tintenpunkten auf der Oberseite des Deckgläschens. Letzteres drücken wir jetzt fest auf den Vaselinring, so dafs keine Luftgänge mehr nach aufsen gehen. Wir schrauben ein stärkeres Objektiv an und untersuchen nun die markierten Tröpfchen etwas eingehender, ob andere, kleinere Keime noch zugegen. Anstatt die Tröpfchen auf das Deckgläschen des hohlen Objektträgers aufzutragen, hätten wir sie auch auf einen flachen sterilen Objektträger bringen können. Indem wir weiterhin zu den nur eine Spore haltenden Tröpfchen etwas keimfreie Nährgelatine gegeben hätten, hätten wir das Verfahren nachgeahmt, durch welches Brefeld die ersten wirklichen von einer Zelle abstammenden Reinkulturen von Schimmelpilzen erhielt.

Die Entwicklung einer Pilzspore.

Das Auskeimen der bereits angeschwollenen Sporen erfolgt ziemlich schnell und thun wir gut, vielleicht alle Stunden den Fortgang der Entwicklung zu verfolgen: wie in den jungen Keimschläuchen die Vakuolen sich bilden, wie die Querwände und Seitenäste entstehen. In den folgenden Tagen können die aus der Spore hervorgegangenen Keimschläuche bereits ein dichtes Gewirr von Fäden darstellen, von denen einzelne aus dem Tröpfchen heraus in die Luft ragen und dort mit der Bildung von neuen Köpfchen beginnen. Die Gesamtheit der Fäden oder Hyphen bezeichnet man als Mycelium. Wir beachten bei der Ausbreitung desselben auch die Ausscheidung von Krystallen; zumeist sind es solche von Briefkouvertform (Quadratoktaëder von oxalsaurem Kalk); ferner fällt uns auf, dafs die über den Rand hinausgehenden Fäden auf gröfsere Strecken die Flüssigkeit mit sich ziehen und dafs an den in die Luft ragenden Fäden (Lufthyphen) häufig Wassertropfen sitzen. Dieses Wasser ist nicht etwa Kondensationswasser, sondern es ist durch die Zellwandung nach aufsen durchgepreſst. Wir lernen hierdurch verstehen, wie es kommt, dafs durch Schimmelpilze die Feuchtigkeit von einer Stelle aus auf andere, vorher ganz trockne Stellen übertragen werden kann. (Zerstören der Balken durch den Hausschwamm.) Da in den einzelnen Tröpfchen die Nahrung schnell aufgebraucht wird, kommt die Entwicklung des Pilzes schnell wieder zum Stillstand und auch das Absterben einzelner Zellen oder ganzer Fäden beginnt frühzeitig. Das Aussehen des Plasmas ändert sich, es wird grobkörnig, die Vakuolen verlieren ihre schöne Rundung, werden eckig und unregelmäfsig, das Plasma zieht sich endlich ganz von der Zellwand zurück und schwimmt als unregelmäfsig geformter Klumpen in der Mitte der Zelle. Wollen wir den Pilz in Reinkultur wieder züchten, dann müssen

wir ihn rechtzeitig aus dem Tröpfchen mit der geglühten Nadel ausheben und in ein Gelatineröhrchen oder Kölbchen übertragen. Hier, wo ihm reichlich Nahrung geboten ist und auch Luft nicht mangelt, beginnt für ihn ein Wohlleben, das sich in einer ganz erstaunlichen Fruktifikation äufsert.

Das Verhalten der Pilzsporen bei Luftabschlufs. Das Vaselineinschlufspräparat.

Um den Einfluſs der Luft auf die Entwicklung der Pilze beurteilen zu lernen, wollen wir noch einige Aussaaten machen und dabei die Luft absperren. Wir nehmen einen gewöhnlichen Objektträger und ein Deckgläschen, flambieren beide und geben zwischen sie einige flambierte Sandkörnchen von gleichmäfsiger Gröfse und | einen Tropfen Nährflüssigkeit, der einzelne Sporen beigemischt sind. Um den Rand des Deckgläschens ziehen wir einen Vaselinring, so dafs Luft von

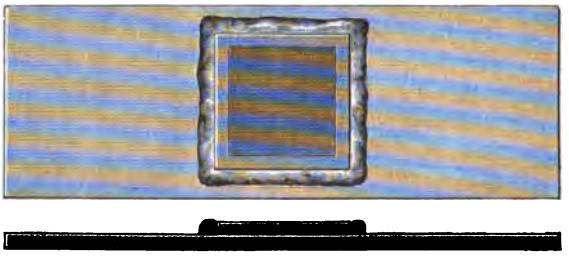


Abb. 82. Sogenanntes Vaselineinschlufspräparat.
Die Nährflüssigkeit ist zwischen Objektträger, Deckglas und Vaselinring eingeschlossen.

aufsen nicht hinzutreten kann. Wir beobachten nun, dafs die Keimung zwar ganz normal eintritt, dafs aber das Wachstum des Mycels schon zeitig aufhört und ein baldiges Absterben eintritt. Ist der Zwischenraum zwischen Objektträger und Deckgläschen nicht völlig mit Nährflüssigkeit ausgefüllt, sondern sind noch Lufträume vorhanden gewesen, dann bemerkt man, wie in deren Nähe das Wachstum am kräftigsten sich zeigt.

Einzelne Pilze, wie der Mucor racemosus, der in Würze eine schwache Gärung erzeugt, zeigen noch besondere Eigentümlichkeiten. Bei dem Mucor racemosus teilen sich die Fäden durch zahlreiche Querwände in eine grofse Anzahl Zellen, die tonnenartig anschwellen und später sich voneinander trennen. Hier bekommt man aufserordentlich schöne mikroskopische Bilder. Die Fadenstücke sehen so zierlich aus, als wenn sie vom Drechsler bearbeitet worden wären. Bei den gärungerregenden Pilzen macht sich auch in dem Präparat das Auftreten von Gasblasen bemerklich. Die tonnenförmigen oder kugeligen Zellen beim Mucor racemosus hat man früher als Mucorhefe bezeichnet; man nennt sie auch noch Gemmen oder Chlamydosporen. Wenn wir

eine Reinkultur von diesem Mucor in ein Kölbchen mit Würze überführen, so bildet sich nach einigen Tagen eine filzige Decke auf der Würze, die mit vielen Gasblasen (Kohlensäure) durchsetzt ist; in ihr, sowie auch unterhalb in der Flüssigkeit ist ebenfalls eine reichliche Gemmenbildung anzutreffen.

Wir verabsäumen nicht, auch von den anderen Pilzen, die wir in Reinkultur dargestellt haben, uns Kulturen in Würze anzulegen. Die einzelnen Arten geben hier recht verschiedene Bilder. Einzelne Schimmelpilze bilden dichte Decken und ein dickes Sporenpolster, wie der Pinselschimmel und Kolbenschimmel; andere, wie das Oidium, ein rein weifses, mit Luft reichlich durchsetztes Filzwerk. Von den Mucorarten bilden einige eine ganz lockere Wolle, andere ein dichtes, mäusegraues Polster. Viele Sporenlager haben die Eigenschaft, dafs sie Flüssigkeitstropfen, die auf ihre Oberfläche gelangen, nicht aufsaugen.

Dieses Nichtbenetztwerden der Sporen hängt mit deren Fettgehalt zusammen. Die Tropfen rollen beim Schütteln des Kölbchens wie Perlen über das Sporenlager hin und lassen dasselbe trocken, nehmen höchstens einen dünnen, staubartigen Belag von Sporen auf, der aber ebenfalls sein trockenes Aussehen behält. Bei ruhigem Stehen der Kulturen kann man auch hin und wieder die Bildung gröfserer Gasblasen unter der Decke beobachten, so z. B. bei dem Oidium lactis. Es wird hierdurch also stellenweise der Kontakt mit dem Flüssigkeitsspiegel unterbrochen. Ähnliche Erscheinungen bieten auch die Kulturen derselben Schimmelpilze auf festen Nährböden, z. B. Würzegelatine. Bei dem Oidium lactis z. B. bilden sich hier grofse Beulen, die mit gespanntem Gas erfüllt sind. Da seitlich die Pilzdecke sich fest eingesaugt hat, wächst mit der Zeit die Spannung des Gases so, dafs die Haut immer straffer und dünner wird. Auf besonders interessante Einzelheiten bei der Kultur der Schimmelpilze werden wir bei der genaueren Besprechung der letzteren eingehen. Wir stellen von sämtlichen Arten, die uns schon als Reinkulturen zur Verfügung stehen, frische Kulturen an. Bevor sie zu kräftigen Mycelien herangewachsen sind, vergehen je nach der Art Tage oder Wochen.

§ 25. Die Reinkultur der Hefen.

Wir können die vorhin besprochene Methode zur Reinkultur von Schimmelpilzen auch hier benutzen. Die Schwierigkeiten sind nur insofern gröfser, als wir bei schwachen Vergröfserungen die durchschnittlich kleineren Hefezellen nicht so leicht von anderen leblosen Beimengungen der Nährflüssigkeit unterscheiden können, als die Schimmelpilzsporen. Wir verrühren also auch hier Hefe mit Würze, und zwar in solchem Verhältnis, dafs von den Würzetröpfchen, die wir mit der Feder auf die

untere Seite des Deckgläschens bringen, einzelne darunter sind, die nur eine Hefezelle einschliefsen.

Diese Methode gestattet uns, das Auskeimen der Zellen sehr gut zu beobachten und gleichzeitig eine Kontrolle zu üben, ob andere Organismen wie Bakterien sich daneben entwickeln.

Am Tage nach der Aussaat sehen wir die 20—30 Zellen, die von einer Zelle ihren Ursprung genommen haben, unten am Grunde des Tropfens in einer schwach gekrümmten Fläche ausgebreitet. Nach zwei Tagen sind bereits mehrere Hundert Zellen gebildet. Wir haben hier schon eine Reinkultur vor uns, die in diesen Tröpfchen wochenlang bis monatelang ihre Lebensfähigkeit behalten kann. Wir wollen aber nicht so lange mit der Übertragung in andere Kulturgefäfse mit mehr Nahrung warten. Mit einer Pincette, die vorher durch die Flamme gezogen, zupfen wir von einem Stück ebenfalls flambierten Filtrierpapier ein kleines Stückchen ab und lassen in dieses sich das kleine Tröpfchen einsaugen. Dies Papier werfen wir in ein Gelatineröhrchen. Um ein schnelleres Angehen der Kultur zu ermöglichen, lassen wir noch mit Hilfe einer Platinnadel einen Tropfen steriler Würze, die wir aus einem der vorrätig gehaltenen Auffrischfläschchen entnehmen, fallen. Nach 2—3 Tagen sehen wir schon so viel Hefe entwickelt, dafs wir an eine Überimpfung in einen kleinen Pasteurkolben mit $^1/_8$—$^1/_4$ Liter Würze denken können. Doch davon später.

Noch auf andere Weise können wir die Übertragung bewerkstelligen. Wir nehmen einen spitzen Platindraht und heben mit demselben ein winziges Partikelchen Gelatine aus dem Gelatineröhrchen heraus und berühren damit das kleine Tröpfchen. Ein Teil desselben bleibt an der Oberfläche der Gelatine haften und kann mit dieser wieder in das Röhrchen zurückgegeben werden.

Noch bequemer wird sich die Überimpfung ausführen lassen, wenn wir am 2. oder 3. Tag der Entwicklung dem Würzetröpfchen am Deckgläschen ein kleines Gelatinetröpfchen zugegeben haben. Hier wird man nach dem Erstarren der Gelatine bequem mit dem Platindraht etwas davon abheben können. — Der Anwendbarkeit der Tröpfchenkultur zur Reinkultur von Bakterien ist vielfach dadurch eine Grenze gezogen, dafs die Bakterienzellen zu klein oder zu beweglich sind. Es läfst sich in diesem Fall nicht immer sicher beurteilen, ob im Tröpfchen nur eine Zelle vorhanden ist.

Verfasser hat aber wiederholt Bakterien, z. B. Sarcina, Milchsäurebakterien auf diese Weise von einer Zelle aus kultiviert.

Die Plattenkultur nach Koch und einige Abänderungen derselben.

Koch hat diese Methode zur Reinkultur der Bakterien benützt. Ihre Auffindung bedeutete den Beginn einer neuen Ära in der Bakteriologie.

Sie besteht in der Vermischung des keimhaltigen Materials mit einer durch schwaches Anwärmen verflüssigten Nährgelatine und in dem Erstarrenlassen der letzteren auf einer Glasplatte oder in einer Glasschale. Eine zweckmäfsige Variation dieser Methode ist die von Esmarch zuerst angewandte Rollkultur, bei der die Gelatine an der Wandung eines Reagenzglases oder eines anderen Gefäfses erstarren gelassen wird.

Weiterhin ist oft sehr zweckmäfsig, die Methode dahin abzuändern, dafs man das keimhaltige Material verdünnt oder unverdünnt über eine erstarrte Gelatineschicht ausgiefst. Hiernach entstehen lauter oberflächlich unter denselben Bedingungen wachsende Kolonien, die sich untereinander sehr leicht vergleichen lassen. Die meisten der Kolonien sind Reinkulturen, nur ein geringer Teil sind Mischkulturen. Da man nie vorher genau wissen kann, ob man und wie weit man das keimhaltige Material verdünnen soll, ist zumeist eine mehrfache Kultur erforderlich. Dies ist sehr umständlich und erfordert auch viel Gelatine und Gefäfse.

Um diesen Umstand zu umgehen, benützt Verf. dieses Buches oft folgendes Verfahren.

Mit Hilfe eines guten Tuschpinsels, welcher in kochendem Wasser sterilisiert und dann in kaltem, sterilen Wasser abgekühlt worden ist, rührt man die zu untersuchende Flüssigkeit tüchtig um und bepinselt einen Teil der Gelatineplatte damit.

Der Pinsel wird nun wieder ins kochende Wasser, oder in starken Alkohol getaucht, dann in steriles, kaltes Wasser, dann in die inzwischen weiter verdünnte keimhaltige Flüssigkeit.

Bei geschickter Pinselführung kann man auf einer und derselben Platte eine gröfsere Anzahl Verdünnungen auftragen und so viel Mühe, Zeit und Material sparen.

Diese Plattenkulturen eignen sich ausgezeichnet zur biologischen Analyse von Würze, Bier, Wasser u. s. w.

Über das Wachstum der Schimmelpilze, Hefen und Bakterien auf oder in der Gelatine wird später bei der Luftuntersuchung geredet werden.

Hat man eine Kolonie zur Abimpfung sich ausgesucht, so sticht man sie mit einem sterilen Platindraht aus und überträgt sie auf ein besonderes Gelatineröhrchen. Um sicher zu gehen, ob die Kolonie einheitlich zusamengesetzt ist, empfiehlt es sich jedoch, sie nochmals zu einer Plattenkultur zu verarbeiten. Haben die nunmehr zur Entwicklung kommenden Kolonien übereinstimmende Eigenschaften bezüglich Gröfse, Aussehen und Wachstumsweise der Kolonien, dann ist die Wahrscheinlichkeit sehr grofs, dafs jede ausgestochene Kolonie eine Reinkultur enthält.

Eine absolute Gewifsheit haben wir aber nicht, und wir müssen auch daran denken, dafs bei Hefen ein Merkmal fast ganz fehlt, das zur

Unterscheidung von Bakterienkolonien oft verwertbar ist, die Färbung der Kolonien; Hefekolonien sehen bis auf wenige Ausnahmen (rote Hefen z. B.) alle weifs aus. Auch die Wuchsform der Kolonien selbst verschiedener Arten ist manchmal nahezu gleich.

Diese Erfahrungen bestimmen uns, andere Methoden zur Hefereinkultur zu benutzen[1]).

Die Gelatinemethode nach Hansen.

Diese Methode, welche Hansen 1886 veröffentlicht hat, ist auf der von Koch 1883 beschriebenen Plattenkultur aufgebaut. Hansen stellt jedoch die wichtige Forderung, dafs der Ausgang der Reinkultur von einer einzigen Zelle mikroskopisch sichergestellt werde. Gesetzt, wir hätten bei der Tröpfchenkultur die richtige Verdünnung nicht getroffen, sondern hätten in jedem der 10 Tröpfchen, die wir etwa auf das Deckgläschen gebracht, stets mehr als eine Zelle, vielleicht 2—3, im ganzen also ungefähr 20—30 Zellen auf dem Deckgläschen erhalten. Wenn wir nun mit der Platinnadel einen Tropfen Würzegelatine auftragen, diese mit den Würzetropfen verrühren und erstarren lassen, alsdann mit dem Mikroskop das Präparat absuchen und einige Stellen, an denen nur je eine Hefenzelle sichtbar ist, durch Tintenpunkte auf der Oberseite des Deckgläschens markieren, dann haben wir ebenfalls unseren Zweck erreicht. An diesen Stellen erwachsen uns kleine Kolonien; jede derselben ist eine Reinkultur. Nach 3—4 Tagen haben sie vielleicht schon die Gröfse eines kleinen Stecknadelkopfes erreicht und können mit der Platinnadel bequem herausgeholt werden. Sind die Kolonien zu dicht nebeneinander gewachsen, dann ist es erforderlich, unter dem Mikroskop zu verfolgen, ob die Nachbarkolonien nicht auch von der Platinnadel gestreift worden sind. In letzterem Fall wäre die neue Impfung als zweifelhafte Reinkultur zu verwerfen.

Das Punktieren mit einer Schreib- oder Zeichenfeder läfst sich schnell erlernen. Die dazu verwendete Tinte darf nicht zu dünnflüssig sein oder wenn keine andere zur Verfügung steht, müssen wir sie in der Feder erst durch einiges Verweilen an der Luft dickflüssig werden lassen. Bei dem Punktieren müssen wir eine schwache Vergröfserung anwenden, um mit der Feder an die zu markierenden Stellen herankommen zu können.

---

[1]) Die Kochsche Plattenkultur ist von van Laer zur Reinzüchtung von Hefen benützt worden. Er überdeckt jedoch die Gelatineplatte auf dem Objektträger mit einem sterilem Glimmerblättchen und bezeichnet auf diesem die Stelle, wo eine vereinzelte Zelle liegt. Der Glimmer läfst sich leicht abheben, ohne dafs die Gelatineoberfläche zerrissen wird. Vorher wird jedoch die Lage der punktierten Zelle noch auf der Unterseite des Objektträgers bezeichnet.

Wo man sogenannte Objektmarkierer hat, möge man mit diesen arbeiten. Jedenfalls sind wir viel unabhängiger, wenn wir mit gewöhnlicher Feder und Tinte arbeiten, denn diese haben wir stets in brauchbarem Zustand zur Hand. Manche arbeiten mit eingeteilten Deckgläschen; auch hiergegen läfst sich nichts weiter einwenden, nur ist ein gewöhnliches Deckgläschen leichter und mit weniger Kosten durch ein anderes zu ersetzen.

Wie wir bei der Tröpfchenmethode auf die Form der Sprofsverbände und das Aussehen der Zellen und ihres Inhaltes achten, so richten wir bei der Gelatinemethode unser Augenmerk auf die verschiedenen Formen des Wachstums der Kolonien. Da die einzelnen Zellen innerhalb derselben zu dicht an- und übereinanderliegen, gehen sie uns für die mikroskopische Beobachtung mehr oder weniger verloren. Ein Nachteil der Gelatinemethode ist es, dafs, nachdem die Zellen markiert sind, die Gelatine namentlich im Sommer leicht wieder zu fliefsen anfängt, wodurch die mühevolle Arbeit natürlich eine vergebliche geworden ist.

Die Verdünnungsmethode nach Hansen.

Es giebt noch eine dritte Methode der Hefereinkultur, die sich auf die Beobachtung sogenannter Hefeflecke stützt. Sie hätte eigentlich an erster Stelle angeführt werden müssen, da Hansen 1881 damit die ersten Reinhefen gewonnen hat. Sie besteht darin, dafs man Hefe mit so viel Würze vermischt, dafs ungefähr der zweite oder dritte Würzetropfen eine Hefezelle enthält. Eine Anzahl solcher Tropfen wird auf eine entsprechende Anzahl kleiner Fläschchen mit steriler Würze gegeben. Da, wo eine Hefezelle mit dem Tropfen eingeführt wurde, bildet sich nach einigen Tagen am Boden des Fläschchens ein heller Fleck, welcher die Nachkommenschaft dieser einen Zelle darstellt. Waren mehrere Zellen im Tropfen, dann bilden sich im Fläschchen ebenso viele Flecke, vorausgesetzt, dafs die Zellen wirklich räumlich voneinander getrennt zum Absetzen auf den Boden gekommen sind. Mikroskopisch läfst sich der Nachweis nicht führen, ob jeder Fleck nur von einer Zelle abstammt. Die Wahrscheinlichkeit, dafs man es hier mit gleichartigen Zellen zu thun hat, ist allerdings sehr grofs. Absolute Sicherheit ist nicht gegeben. Diese Methode ist etwas umständlich wegen der vielen Fläschchen, die wir impfen müssen. Sie läfst sich nach Lindner in folgender Weise einfacher gestalten:

Die Tropfenkultur.

Man saugt von der Würze, in der die Hefe verteilt ist, einige Kubikcentimeter in eine sterile Pipette und betupft mit letzterer den Boden eines sterilen Petrischälchens; ein zweites zugehöriges Schälchen

dient als Deckel und wird nach Beendigung des Tupfens aufgelegt (Abb. 69). Mit einem Gummiring wird abgedichtet. Bei dieser Methode müfste ebenfalls durchschnittlich jeder zweite oder dritte Tropfen eine Hefenzelle erhalten und sich am Grunde des Tropfens ein Hefenfleck bilden. Wir hätten bei dieser Ausführung noch den Vorteil, dafs die Hefenfleckbildung eher sichtbar wird. Obwohl man ja durch mikroskopische Untersuchung einer kleinen Probe aus solch einem Tröpfchen mit nur einem Hefenfleck sich von der Gleichförmigkeit der Zellen überzeugen kann, so ist diese Methode zum Zweck der Reinkultur doch

Abb. 83. Anlage einer Tropfenkultur.
Der Gummiring links dient dazu, die Schalen luftdicht abzuschliefsen, so dafs kein Eintrocknen der Tropfen erfolgen kann.

nicht als sicher zu empfehlen, da das mikroskopische Bild uns doch täuschen kann. Aber zu anderen Zwecken ist uns diese Methode wegen ihrer Einfachheit sehr willkommen, so zur Untersuchung des Keimgehaltes der Betriebswürze, des Wassers, des Bieres. Da das Charakteristische an der Methode in der Zerlegung der zu untersuchenden Flüssigkeit in eine grofse Anzahl Tropfen besteht, hat Verf., der sie Mitte 1892 zuerst eingeführt hat, ihr den Namen „**Tropfenkultur**“ gegeben. Sie ist nicht zu verwechseln mit der oben erwähnten **Tröpfchenkultur**.

§ 26. Vermehrung der Reinhefe in Massenkulturen. Hefereinzuchtapparate.

Wir kehren wieder zurück zu unseren Hefekulturen, die wir seiner Zeit angesetzt hatten. Es gilt nun das Überimpfen von den Reagenzglaskulturen, in denen die Reinhefe bereits dicke Polster auf der Würzegelatine gebildet hat, in kleine, mit ca. 1/8 Liter Würze gefüllte Pasteursche Kolben. Zunächst sengen wir den Wattepfropf des Gelatineröhrchens sowie den vorher schon etwas gelockerten Stöpsel am Gummischlauch des Kolbens ab, um den darauf abgelagerten Zimmerstaub steril zu machen. Dann halten wir in der linken Hand das Röhrchen mit der Öffnung nach unten, in der rechten zwischen Daumen, Zeige- und Mittelfinger den Platindraht. Wir glühen diesen in der Flamme, so dafs die Flamme auch an dem Glasstab leckt, kühlen dann durch wiederholtes Hin- und Herbewegen in der Luft ab und ziehen mit Mittel- und Goldfinger der rechten Hand den Wattepfropf vom Reagenzglas. Mit dem Platindraht holen wir dann ein Klümpchen Hefe hervor. Das Reagenzglas drücken wir an den Wattepfropf an, so dafs dieser lose verschliefst, und legen es beiseite. Nachdem so die linke Hand frei geworden, bringen wir sie an den Gummischlauch und quetschen denselben mit den Fingern zusammen, ziehen mit dem Mittel- und Goldfinger der rechten Hand den Stöpsel, der nicht zu fest sitzen darf, heraus und schieben den Platindraht mit der Hefe tief in den Schlauch. Während des Zurückziehens des Drahtes quetscht man wieder den Schlauch zu, damit die Hefe vom Draht abgestreift wird. Zum Schlufs stopft man mit dem Stöpsel, der im Augenblick zuvor flambiert worden, das Schlauchende wieder zu. Nun neigt man den Kolben etwas, um etwas Würze in den Schlauch zu bekommen und die Hefe herunter zu spülen.

Die Impfung ist erfolgt; wir stellen den Kolben auf einen Pappring oder Korkuntersatz oder hängen ihn an eine eiserne Stange, die an der Wand des Laboratoriums angebracht ist. Am folgenden oder nächstfolgenden Tage sehen wir Hefenstreifen oder Flecke an der Glaswandung in der Nähe des tiefsten Punktes. Wir schütteln den Kolben etwas und bemerken dabei schon ein Aufschäumen. Nun kann, um eine schnelle Entwicklung und starke Vermehrung der Hefe zu erzielen, mit der Lüftung der Würze begonnen werden. Wir vertauschen den Stöpsel mit einem Wattefilter und blasen durch dieses Luft in den Kolben. Von Zeit zu Zeit unterbricht man die Lüftung und schüttelt wieder tüchtig. Wenn der Schaum sich gesetzt hat, kann man wieder Luft überleiten. Eine viertelstündige Durchlüftung genügt schon, um eine starke Hefenausbeute zu erzielen. Nach einigen Tagen finden wir z. B. bei der Kultur von Unterhefen in der That starke und festliegende Bodensätze, die selbst beim Schütteln des Kolbens sich nur

schwer zerteilen lassen. Wir wollen jetzt mit der erzielten Hefenmenge einen gröfseren Kolben impfen. Uns ist aber das Bier über der Hefe ein unangenehmer Ballast. Das Bier blasen wir daher mit Hilfe des Luftfilters aus dem kleinen Kolben durch das gebogene Rohr heraus, nachdem letzteres vorher genügend flambiert worden ist. Durch ein sanftes Schütteln während des Ausblasens erstreben wir noch die Entfernung der lockeren braunen Schicht, die der eigentlichen Kernhefe auflagert. Es gehen damit viele abgestorbene oder leichte und weniger kräftige Hefezellen fort. Wir wollen den verbleibenden Hefenrest einem gröfseren Pasteur-Kolben mit ungefähr $^3/_4$ Liter Würze einimpfen. Wir stellen beide Kolben so auf, dafs die Gummischläuche gegeneinander gekehrt sind, lockern den Gummischlauch an dem Stutzen des rechtsstehenden Kolbens, dafs er nur eben noch aufsitzt, und flambieren diese Stelle etwas. Nun ziehen wir den Stöpsel aus dem linksstehenden Kolben, halten den Schlauch mit Daumen und Zeigefinger der linken Hand zu, führen mit der rechten Hand die Gasflamme an das Schlauchende und flambieren etwas; dann ziehen wir an dem Schlauch etwas, bis der Kolben so weit nachgerückt ist, dafs wir bequem den Glasstutzen des rechten Kolbens erreichen. Den gelockerten Schlauch des letzteren quetschen wir zwischen Zeigefinger und Mittelfinger der linken Hand, ziehen ihn ab und streifen, während wir mit der rechten Hand den Rohrstutzen (nicht den Kolbenhals!) festhalten, den Gummischlauch des linken Kolbens ein kurzes Stück darüber. Unterdessen haben wir den abgezogenen Schlauch zugequetscht gehalten. Wenn wir nun schnell mit dem Stöpsel vom linken Kolben nach kurzem Flambieren den Schlauch zustopfen, so ist derselbe beiderseits geschlossen und vor Infektion gesichert. Wir legen ihn beiseite, um ihn später wieder zu benützen, wenn das Übergiefsen der Hefe nach dem rechten Kolben erfolgt ist. Ehe dies geschieht, überzeugen wir uns noch, ob der Verbindungsschlauch zwischen beiden Kolben festsitzt, und flambieren etwas an der Verbindungsstelle. Nun beginnen wir mit dem Übergiefsen von Würze aus dem rechten nach dem linken Kolben. Wir halten aber währenddessen die Öffnung des gebogenen Rohres des rechten Kolbens mit einem Finger geschlossen, damit keine Luft nachströmen kann. Die Würze fliefst nur ruckweise, da der von ihr eingenommene Raum durch eine entsprechende Menge Luft aus dem andren Kolben erst ausgefüllt werden mufs. Wir begnügen uns mit soviel Würze, als zum Aufrühren des Bodensatzes eben nötig ist. Geben wir von Anfang an zu viel Würze zu, so zerteilen sich die Hefeschollen nicht so gut und leicht, als bei wenig Würze. Den ziemlich dickflüssigen Hefenbrei schütten wir unter Zuhalten des gebogenen Rohres in den gröfseren Kolben und spülen später mit etwas frischer Würze nach. Kommt es uns darauf an, in dem kleinen Kolben etwas von der Reinhefe aufzubewahren, dann lassen wir von der letzten

Würze, die ja schon mit Hefe vermischt ist, eine angemessene Menge darin zurück. Es handelt sich jetzt darum, die beiden Kolben wieder zu trennen. Die Maſsnahmen sind dieselben, wie bei der Verbindung; hierbei gelangt der vorhin beiseite gelegte Gummischlauch wieder an seine alte Stelle. Wenn in dem gröſseren Kolben die Gärung anhebt, dann vertauschen wir den Stöpsel wieder mit einem Wattefilter und durchlüften kurze Zeit, um die Hefen zu kräftigem Wachstum anzuregen. Einige Stunden nachher gärt es bereits, und nun könnten wir schon daran gehen, einen groſsen Kupferkolben mit 5—6 Liter Würze mit der jungen Gärung zu impfen. Wir erzielen hierdurch einen Vorsprung von einigen Tagen gegenüber dem anderen Verfahren, wo wir immer nur mit der Bodensatzhefe impfen. Mit der Hefe von diesen 5—6 Litern Würze resp. mit der in voller Gärung stehenden Würze selbst können wir jetzt schon 50 Liter frische Würze anstellen, mit diesen wieder 200 Liter, mit diesen dann 800 Liter etc. Haben wir Reinzuchtapparate zu impfen, dann geschieht dies in ähnlicher Weise wie vorhin bei der Verbindung der beiden Kolben. Die Behandlung der Reinzuchtapparate vor der Impfung werden wir im folgenden kennen lernen. — Wir beginnen mit dem kleinen Lindnerschen Reinzuchtapparat, der eine Hefenproduktion bis 1 kg gestattet. Er ist in kleinen und mittleren Brauereien, sowie in Laboratorien vielfach in Gebrauch. Die einzelnen Teile desselben können auch anderen Zwecken dienstbar gemacht werden. Wir lassen hier gleich die ausführliche Gebrauchsanweisung folgen:

Gebrauchsanweisung für den kleinen Reinzuchtapparat (System Lindner).

Das durch nachstehende Abb. 84 veranschaulichte System setzt sich zusammen aus dem cylindrischen Gefäſs A und dem Kolben B; als Ergänzung tritt noch hinzu die Wasserstrahlluftpumpe D und das doppelhalsige Gefäſs C. In A werden ca. 50—60 Liter Würze sterilisiert und nachher durch die in B vorrätig gehaltene Reinhefe zur Gärung gebracht. Durch die Verbindung von A mit B und von B mit C und D wird ein Durchlüften der Würze in A ermöglicht. Bei ungenügendem Wasserdruck (wenn die Wassersäule 10 m Höhe nicht erreicht) ist die Wasserstrahlpumpe unwirksam und die Verwendung von Druckluft, wie sie vielleicht durch einen kleinen Tretblasebalg geliefert wird, vorzuziehen. Letzterer würde dann links von A aufgestellt und durch einen Gummischlauch mit d verbunden werden müssen. Noch bequemer ist es, wenn man den Anschluſs an eine Druckluftleitung ermöglichen kann. In Brauereien ist wohl zumeist ein gröſserer Windkessel vorhanden.

Um die in die Würze nach dem Sterilisieren einzublasende Luft keimfrei zu erhalten, verwendet man die zum Apparat beigegebenen Wattefilter. Dieselben sind in einem Ofen bei einer Temperatur von 150—180° C. während 2 Stunden sterilisiert worden. Sofern die Watte einen geblich-braunen Anflug bekommen hat ist man sicher, daſs alle an ihr haftenden Keime getötet worden sind. Die Watte darf nicht zu fest, aber auch nicht zu locker gestopft sein. Die beiden Enden des Filters sind mit besonderen kleinen Wattepfropfen versehen, die vor dem Einführen des ersteren in den Gummischlauch herausgenommen werden. Das Filter d am

Cylinder A mufs nach jeder Gärung durch ein frisches ersetzt werden. Das zweite Filter e_2 am Kolben B braucht erst nach 6—8 Wochen erneuert zu werden.

Das Gestell, auf welchem der Cylinder A ruht, mufs so gebaut sein, dafs er bequem gerollt werden kann und dafs Gasbrenner oder, falls Gas nicht zur Verfügung steht, ein kleiner Rost für Kohlenfeuer untergestellt werden können. Sehr zu empfehlen ist, den Cylinder auf eiserne Träger, die in die Mauer eingesenkt und denen halbkreisförmig gebogene eiserne Bänder aufgeschraubt sind, zu legen. Um den Cylinder bequem tragen zu können, empfiehlt sich die Anschaffung von 2 Gurten aus Bandeisen, die oben an der Stelle, wo sie zusammengeschraubt sind, 2 Ösen tragen, durch die eine kräftige Holzstange gesteckt werden kann.

Es ist ratsam, den Apparat statt im Gärkeller in einem Zimmer aufzustellen, dessen Temperatur durchschnittlich etwa 12—15° C. beträgt, weil hier die Gärung schnell verläuft und nach 5—6 Tagen bereis Hefe gewonnen werden kann. Unter Umständen wird man auch schon nach 1—2 Tagen die eben in Kräusen gekommene Würze entnehmen und damit anstellen können.

Bei der Inbetriebsetzung des Apparates ist im einzelnen folgendermafsen zu verfahren:

1. Der vor der Benutzung gründlich gereinigte Cylinder A wird bei dem Einfüllen der Würze in eine derartige Lage gebracht, dafs der Stutzen b sich unten

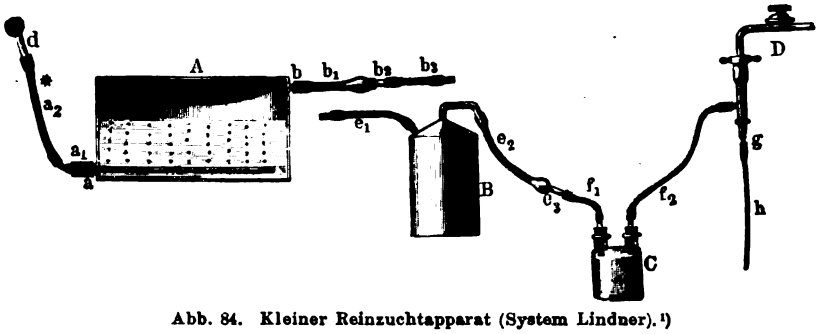


Abb. 84. Kleiner Reinzuchtapparat (System Lindner).[1])

und a oben befindet; auf b wird ein langer Gummischlauch befestigt, der bis in das höher gelegene Gefäfs, von welchen die Würze abgefüllt werden soll, reicht. Das Ansaugen kann sehr leicht und ohne Gefahr an dem Stutzen a mit dem Munde geschehen. Ist zu viel Würze in den Cylinder gelaufen, so kann man durch geringe Drehung desselben den Stutzen a unter das Niveau des Würzespiegels bringen und die überschüssige Würze ablaufen lassen. Zweckmäfsig ist, gleich von vornherein sich diejenige Lage des Stutzens auszuprobieren, welche der Füllung von 55 Litern gerade entspricht; ein Zuviel an Würze macht sich dann durch Auslaufen aus a bemerkbar. Den langen Gummischlauch verschliefse man jetzt mit einem Quetschhahn.

2. Die nun folgende Sterilisation der Würze wird durch ein kürzeres Aufkochen bewirkt. Vor Beginn der Dampfentwicklung wird A so gerollt, dafs a in der obersten Lage sich befindet; weiterhin wird das Durchlüftungsrohr c eingeführt und durch den kurzen Gummischlauch a_1 an dem Stutzen a befestigt. An dem äufseren Ende von c wird der Schlauch a_2 befestigt. a_2 wird nach 10 Minuten

[1]) In A ist die Schraffierung nicht richtig ausgeführt, es macht den Eindruck, als ob man einen niedrigen vertikal stehenden Bottich, aber nicht einen liegenden Cylinder vor sich hätte.

langem Durchströmen von Dampf mit dem Filter d versehen, nachdem dieses soeben mit dem schmäleren Ende in die Flamme gehalten und des kleinen brennenden Wattepfropfens entledigt worden. In dem Moment, wo das Filter eingeführt wird, quetscht man mit den Fingern, später mit einem Quetschhahn a_2 zu und zieht die Brenner oder das Holz- oder Kohlenfeuer unter A weg. Würde man damit unnötig lange warten, so würde das Filter vom Dampf ganz feucht werden und nachher schlecht funktionieren. — Nun ist der Cylinder so zu rollen, dafs a die untere, b die obere Stellung erhält. Der lange Gummischlauch, der bisher an b befestigt und mit einem Pfropfen oder durch einen Knoten verschlossen war, wird abgenommen und durch den kürzeren weiten Gummischlauch b_1, das Glasrohr b_2 und den engeren Gummischlauch b_3 ersetzt. Man läfst nun von neuem kochen und den Dampf während 10 Minuten aus b_3 strömen; dann verschliefst man mit einem Metallstöpsel, den man eben in der Flamme erhitzt hat.

Nun sind die Würze, sowie die an dem Cylinder angebrachten Schläuche sterilisiert. Würde man den Cylinder so sich selbst überlassen, so würden wahr-

Abb. 85. Lindners kleiner Reinzuchtapparat (nach einer Photographie).

scheinlich nach einiger Zeit mit starkem Knall die Wände des Apparates von dem äufseren Luftdruck eingedrückt werden. Es ist also nötig, sogleich nach dem Verschliefsen von b_3 und nach der Wegnahme der Flammen unter A durch Aufrichten des Schlauches a_3 und durch Öffnen des Quetschhahnes der äufseren Luft den Eintritt durch das Filter in das Lüftungsrohr zu gestatten. Indem der über dem Würzespiegel befindliche Wasserdampf bei der allmählichen Abkühlung sich verflüssigt hat, ist ein luftleerer, bezw. nach Eintritt der ersten Luftblasen ein luftverdünnter Raum entstanden. Das Eintreten der Luft in dem Cylinder dauert so lange an, bis derselbe die Temperatur des Zimmers angenommen hat. Bei dem Aufsteigen der Luftblasen in der Würze absorbiert diese einen Teil des Sauerstoffs. Läfst man, was durchaus zu empfehlen ist, die Würze sich von selbst abkühlen, dann ist sicher auch die Sauerstoffaufnahme durch die Würze bedeutender, als bei schneller Abkühlung durch Wasserüberrieselung. Bei letzterer ist besonders darauf hinzuweisen, dafs Unterbrechungen bei der Berieselung, namentlich anfänglich, wenn die Würze noch heifs ist, sehr leicht ein Zurücktreten der Würze in das Filter d herbeiführen können, indem die über der Würze befindliche, von dem Wasser vordem stark abgekühlte kupferne Wandung, sowie die von ihr eingeschlossene Luft allmählich die Temperatur der Würze annehmen und infolge einer Volumenvergröfserung auf die Würze drücken. Also bei Kühlung mit Wasser ununterbrochenes Überrieseln des Apparates!

3. Der Cylinder braucht nach dem Abkühlen bis auf Zimmertemperatur nicht sogleich geimpft zu werden. Wenn die bisher gegebenen Vorschriften genau innegehalten worden sind, dann mufs die Würze in demselben wochen- und monatelang steril bleiben.

Bevor wir die Impfung des Cylinders näher besprechen, mögen einige Worte über den Kolben B, in welchem die Anstellhefe sich befindet, vorausgeschickt werden.

Wie aus der Zeichnung ersichtlich, trägt er 2 Stutzen, welche beide mit Gummischläuchen (e_1 und e_2) versehen sind. e_2 ist mit einem Filter, e_1 mit einem Metallstöpsel verschlossen. Die in ihm erzeugte Hefemenge, welche aus der Gärung von 5—6 Litern Würze entstanden ist, beläuft sich auf ungefähr 50—60 g in gepreſstem Zustand. Die vergorene Würze wird vor dem Verschicken des Kolbens bis fast auf den letzten Tropfen entfernt, so dafs nur der feste Bodensatz der Hefe darin bleibt.

Die Übertragung dieser Hefe in den Cylinder A geschieht folgendermafsen:

Man bläst durch das Filter e_3 mit dem Mund so viel Luft in den Kolben, dafs darin eine ziemliche Spannung entsteht, und quetscht den Schlauch e_2 mit einem Quetschhahn zu. b_3 mufs ebenfalls mit einem Quetschhahn versehen werden, damit im Augenblick der Verbindung kein Luftzug nach A stattfinden kann. b_3 nehme man zwischen Daumen und Zeigefinger, e_1 zwischen Zeigefinger und Mittelfinger der linken Hand. Mit der rechten Hand zieht man jetzt den Stöpsel von b_3 ab und lockert den Schlauch e_1 am Stutzen, so dafs er sich im nächsten Augenblick gut abziehen läfst. b_3 wird nun auf den Stutzen geschoben und der von Zeige- und Mittelfinger fest zusammengedrückte Schlauch e_1 mit einem soeben flambierten Metallstöpsel verschlossen. Man vermeide es so viel als möglich, mit den Fingern oder Fingernägeln die Schlauchenden oder den Stutzen zu berühren. Nach der Verbindung von A und B flambiert man noch die Verbindungsstellen und öffnet dann die Quetschhähne an e_2 und b_3.

Durch eine mäfsige Drehung des Cylinders A erreicht man leicht ein Überfliefsen der Würze nach B. Es genügt 1 Liter davon, um die Bodensatzhefe in B aufzuschütteln und flüssig zu machen; diese wird nun mit der Würze nach A zurückgegossen. Hierbei gebrauche man die Vorsicht, a_2 zugequetscht zu halten, damit zum Filter d nicht Würze emporsteigt.

4. Nun kann mit dem Durchlüften begonnen werden. f_1 wird mit e_2 verbunden und der Hahn der Wasserstrahlpumpe geöffnet. Aus C, B und A, die jetzt miteinander in Verbindung stehen, wird Luft weggesaugt, was nach Entfernung des Quetschhahnes von a_2 das Einströmen von Luft aus dem Rohr c in die Würze zur Folge hat. Man setze das Lüften so lange fort, bis nach B schon gröfsere Schaummengen (die sich in dem Glasrohr b_2 zeigen) übergetreten sind. Wenn der Schaum in B sich wieder etwas gesetzt hat, kann man weiter lüften; im ganzen verwende man darauf vielleicht eine Stunde.

Mit dem Durchlüften ist gleichzeitig eine gute Verteilung der Hefe in der Würze in A erreicht worden. Von dieser lasse man nun 5—6 Liter nach B zurückfliefsen.

Die Anwendung einer Spiralfederwage, an deren Haken man B aufhängt, läfst uns ziemlich genau die Menge der übergetretenen Würze bestimmen. Es erübrigt noch, a_2 mit einem Quetschhahn zu verschliefsen und f_1 von e_3 abzuziehen. Die in A und B sich entwickelnde Kohlensäure entweicht vorläufig durch e_3.

5. Am zweiten Tage durchlüftet man wiederum, vielleicht eine halbe Stunde; dann rollt man den Cylinder A um 180°, hält dabei a_2 mit der linken Hand zugequetscht, dreht und schüttelt das Luftrohr c etwas, damit die in ihm befindliche

Würze nach dem Innern ablaufe. Ist das geschehen, dann lasse man a_2 los und quetsche b_3 mit einem Quetschhahn zu.

Den Gang der Gärung kann man durch Beobachtung der Würze in dem Glasrohr b_3 und nach der Intensität des Kohlensäurestromes, der aus d entweicht, bemessen. Verbindet man d durch einen Gummischlauch mit einem Glasrohr und taucht letzteres in ein Gefäfs mit Wasser, so läfst sich an der Schnelligkeit der auftauchenden Gasblasen die Zu- und Abnahme der Gärung gut verfolgen.

6. Nach 5–6 Tagen kann der Cylinder A entleert werden. Der Schlauch e_1, der inzwischen sorgfältig aufbewahrt worden ist, wird wieder hervorgeholt und nach dem Abziehen von b_3 vom Stutzen wieder an diesem befestigt. Aus b_3 läfst man die vergorene Würze bis auf den letzten Tropfen auslaufen und entnimmt dabei gleichzeitig einige Proben, die man in sterilen Glasflaschen auffängt. Dann zieht man a_1 und c ab und verschliefst den Stutzen a mit einem passenden flambierten Gummipfropfen oder Korken.

Der Cylinder A ist nun sehr leicht und bequem zu handhaben. Man gieſse durch b_3 1—2 Liter frische, möglichst keimfreie Würze oder ebensogut gekochtes und nachher abgekühltes Wasser, rolle tüchtig auf einer Stuhllehne oder Tischkante und entleere die Hefenflüssigkeit in ein untergestelltes sauberes Gefäfs.

Aus B gieſse man das über dem Bodensatz stehende Bier vorsichtig ab. Man flambiere zuerst das Schlauchende e_1, entferne mit der linken Hand den Metallstöpsel, quetsche mit der rechten Hand den Schlauch zu, mit dem rechten Arm dabei den Kolben umfassend. Die linke Hand führe das Filter e_3 an den Mund und halte gleichzeitig das gebogene Rohr fest. Der Kolben wird vorsichtig geneigt und unter beständigem Blasen das Bier zum Ausfliefsen gebracht.

Der Kolben B wird bis zum Tage der nächsten Impfung an einem trocknen, kühlen Orte vorsichtig aufbewahrt. Selbst nach Wochen mufs die Hefe darin noch rein und brauchbar sein.

7. Bei einer neuen Inbetriebsetzung des Cylinders A ist auch ein neues steriles Filter nötig. Nach längerem Gebrauch ist es rätlich, die Gummischläuche da, wo sie auf den Stutzen aufsafsen, zu beschneiden, damit sie wieder straff anliegen. Sollte vielleicht in das Filter e_3 etwas Bier geflossen sein, dann ist dasselbe durch ein anderes steriles zu erneuern. Nach 6monatlichem oder nach längerem fortgesetzten Gebrauch des Kolbens B dürfte sich das Bedürfnis herausstellen, denselben wieder einmal gründlich zu reinigen. Man kann sich hierbei folgendermafsen helfen: Nach der Impfung von A löst man auf kurze Zeit die Verbindung mit Kolben B und verschliefst e_3 mit einem Filter. B wird schnell gereinigt und darin $^1/_2$—1 Liter Wasser zum Kochen gebracht. Dann versieht man die Stutzen mit frischen Schläuchen und verschliefst während der Dampfentwicklung mit Metallstöpsel und Filter. Nach dem Abkühlen stelle man die Verbindung mit A wieder her und lasse 5—6 Liter gärender Würze nach B überlaufen.

Bezüglich der Wasserstrahlpumpe ist noch zu bemerken, dafs man unterhalb derselben gewöhnlich einen ungefähr 1 m langen Gummischlauch befestigt. Bei welcher Stellung des Rohrstückes g die beste Saugwirkung eintritt, mufs man durch Auf- und Niederschrauben desselben sich ausprobieren.

Um sich von der Reinlichkeit im Cylinder A zu überzeugen, kann man denselben nach der Entleerung ausleuchten. Man läfst in den einen Stutzen einen dünnen brennenden Holzspan einführen, während man durch den andern Stutzen in das Innere sieht; dann wechselt man um.

Während des Abkühlens der sterilen Würze in A, sowie während der Gärung ist besonders auch darauf zu achten, dafs die Gummischläuche keinen Knick bilden;

im ersteren Falle würde ein bedeutender Minderdruck, im letzteren ein Überdruck sich geltend machen.

8. Bezüglich der Kontrolle der Hefe auf Reinheit wird es ratsam sein, monatlich Proben zu entnehmen und untersuchen zu lassen. Die Proben werden am besten bei der Entleerung des Cylinders A entnommen. Sobald nur noch ein geringer Rest vergorener Würze im Apparat ist, schüttelt man mit demselben etwas Hefe auf und läfst diese dann in das sterile Probegläschen fliefsen. In demselben läfst man die Hefe sich zunächst absetzen, dann gieſst man das überstehende Bier ab und verschliefst mit dem Wattepfropfen oder einem Korken, den man kurz vorher in die Flamme gehalten hat. So beschickt, können die Gläschen versandt werden. Zur eigenen Orientierung wird man bei der Entleerung des Cylinders noch in einige sterile Probiergläschen etwas Bier abfüllen und sie bei Zimmertemperatur stehen lassen. Die Gegenwart von fremden Organismen wird sich in den meisten Fällen schon dem bloſsen Auge bemerkbar machen, sei es durch den Eintritt einer Trübung im Bier oder durch Bildung einer Haut auf demselben.

Was die Vermehrung der gewonnenen Hefe (ca. 1 kg) anlangt, so kann man auf verschiedene Weise verfahren. Die meisten Praktiker werden hier ganz von selbst das Richtige zu treffen wissen, gelten ja doch für die Reinhefe in Bezug auf Wachstum und Vermehrung dieselben Gesetze wie für die gewöhnliche Betriebshefe. Hervorgehoben muſs jedoch werden, daſs es bei ersterer gerade im Anfang der Vermehrung von gröſster Bedeutung ist, daſs die anzustellende Würze möglichst keimfrei sei. Würze, welche lange Zeit offen und in schlecht gereinigten Gefäſsen gestanden, oder welche schlecht gereinigte Leitungen oder Schläuche passiert hat, ist vom Übel, da sie fremde Keime der Reinhefe zuführt und diese mehr oder weniger entwertet. Mit der Zugabe neuer Würze warte man nicht zu lange, sondern passe den Zeitpunkt ab, wo eben eine weiſse Decke sich zu bilden beginnt. Während die erste Würzemenge zweckmäſsig bei 8—10° C. angestellt wird[1]), gehe man bei den späteren Zugaben mit der Temperatur allmählich herunter, so daſs, wenn der ganze Bottich zum Anstellen kommt, die Würze gewöhnliche Anstelltemperatur von 5° C. hat. Den ersten Bottich fasse man eher etwas zu grün als zu lauter. Mit der aus dem Reinzuchtapparat gewonnenen Hefe stelle man zunächst 10 Liter an; sobald die weiſse Decke erscheint, gieſse man weitere 50 Liter zu. Dann steigere man die Würzemenge auf 2,5—3 hl, schlieſslich auf einen halben und einen ganzen Bottich.

Kommt es nicht darauf an, die Hefevermehrung so zu beschleunigen, dann kann man auch so verfahren, daſs man gleich von vornherein mit der aus dem Apparat gewonnenen Hefe 2,5—3 hl Würze mit 6—8° C. anstellt und eine ordnungsmäſsig geführte Gärung stattfinden läfst.

[1]) In einem Raum, in welchem sehr schnelle Abkühlung zu erwarten, wird man mit 15° C. und darüber anstellen können.

Wer sich zwei Kolben B anschafft, kann auch bequem mit 2 verschiedenen Heferassen arbeiten. Der eine Kolben wird dann solange zurückgestellt, bis die Gärung mit der anderen Hefe beendet ist. Es kann also abwechselnd im Cylinder A bald die eine, bald die andere Heferasse gezüchtet werden.

Der oben beschriebene Apparat kann von der Glasbläserei des Instituts für Gärungsgewerbe, Berlin N., Seestrafse, bezogen werden und kostet 200 Mark.

Geliefert wird dafür: 1. der Cylinder A, 2. der Kolben B, 3. das Durchlüftungsrohr c, 4. die Flasche C, 5. die Wasserstrahlpumpe D, 6. die zu 1—5 gehörigen Gummischläuche in doppelter Anzahl, 7. 50 Stück schon sterilisierte Wattefilter, 8. ein Berieselungsrohr für Wasserkühlung. Wagen, eiserne Träger, sowie ein Blasebalg werden auf Wunsch ebenfalls geliefert gegen besondere Rechnung.

Der Kühle-Hansensche Reinzucht-Apparat.

Das Verdienst, der Gärungsindustrie zuerst einen Reinzucht-Apparat dargeboten zu haben, gebührt den Herren Hansen und Kühle. Im Jahre 1885 wurde derselbe in der Brauerei Alt-Karlsberg in Betrieb gesetzt.

Der Apparat besteht aus drei Abteilungen und den sie verbindenden Leitungsröhren: I. Luftpumpe A mit Luftbehälter B, II. Würzecylinder D, III. Gärungscylinder C.

I. Die Luftpumpe wird mit Maschinenkraft getrieben und der Luftbehälter mit komprimierter Luft (3—4 Atm.) gefüllt.

II. Den Würzecylinder sterilisiert man mittelst heifser gespannter Dämpfe von der gewöhnlichen Leitung der Brauerei und füllt ihn darnach mit steriler Luft. Diese Luft kommt mit Druck von dem Luftbehälter und wird in einem Filter (eine Metallkapsel mit Baumwolle) gereinigt. Die Würze führt man in siedend heifsem Zustande von der Hauptleitung des Sudhauses in den Cylinder. Die Abkühlung geschieht mittelst Überrieselung mit kaltem Wasser; die für die Lüftung nötigen Luftmengen läfst man durch das Filter streifen.

III. Der Gärungscylinder wird in derselben Weise wie der Würzecylinder sterilisiert. Er hat ein ähnliches Filter, ein Glasrohr, um den Stand der Flüssigkeit beobachten zu können, einen Ausführungskanal für die entweichende Kohlensäure, einen Rührapparat, um die Hefe mit der Flüssigkeit mischen zu können, ein Röhrchen für die Einführung der Hefe und die Entnahme kleiner Proben. Die Hefe wird nur einmal zugesetzt, der Apparat arbeitet dann ein Jahr oder länger, wie man will. In Bezug auf die Hähne ist nur zu bemerken, dafs der Abzapfungshahn von eigenartiger Konstruktion ist; er ist nämlich so eingerichtet, dafs die Flüssigkeit selbst die Reinigung besorgt und dafs keine Infektion von aufsen stattfinden kann.

Durch die die beiden Cylinder verbindende Leitung wird die Würze in den Gärungscylinder übergeführt. Sobald sie in die Nähe des Heferöhrchens gekommen ist, wird zugeschlossen, bis die Hefe zugesetzt ist, dann wird bis zu dem Markenstrich, welcher an dem oberen Teile des Glasrohres angebracht ist, angefüllt, herumgerührt, und 220 Liter sterile Würze sind in dieser Weise mit absolut reiner Hefe in Gährung gebracht.

Etwa 10 Tage nachher wird das Bier abgezapft. Während der Abzapfung läfst man Luft durch das Filter streichen. Sobald etwas Schaum kommt, hält man ein, giefst Würze zu, rührt um und nimmt von dieser Mischung von Würze und Hefe 27 Liter heraus. Aufs neue wird Würze zugegossen, abermals umgerührt und von der letzten Mischung 27 Liter genommen. Die Mafse werden durch Teilstriche an dem Glasrohre angegeben. In den herausgenommenen 54 Litern hat man Stellhefe für 8 hl Würze; der Heferest in dem Cylinder genügt, um aufs neue 220 Liter in Gärung zu bringen, und so geht es denn unaufhörlich fort. Ein Gärungs-

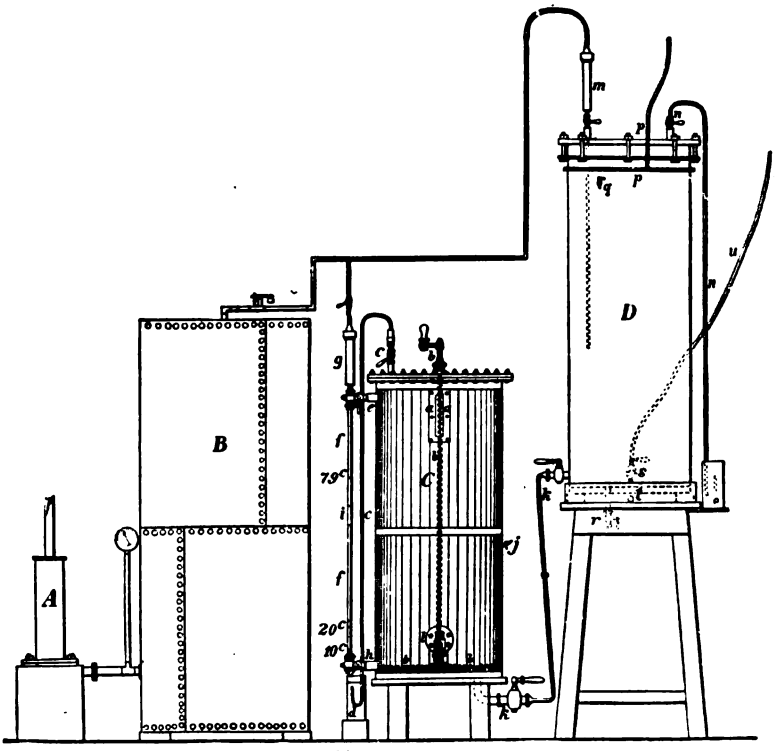


Abb. 86. Kühle-Hansenscher Reinzuchtapparat.

cylinder liefert folglich absolut reine Stellhefe für 24 hl Würze pro Monat; wünscht man es noch weiter zu treiben, kann man die Hefe vier- statt dreimal des Monats herausnehmen und statt einem zwei oder mehrere Gärungscylinder aufstellen.

Bei der Anwendung des Apparates sind zwei Hauptpunkte zu bemerken: 1. dafs die Dämpfung genügend ist, so dafs eine wirkliche Sterilisation stattfindet, und 2. dafs während der Abkühlung und Abzapfung immer ein Überdruck steriler Luft in dem betreffenden Cylinder vorhanden ist. Wenn diese zwei Bedingungen erfüllt sind, kann keine Infektion, kein Einsaugen unreiner Luft stattfinden.

Am zweckmäfsigsten wird es immer sein, wenn die betreffende Brauerei, die einen gröfseren Reinzuchtapparat aufstellt, bei der Inbetriebsetzung einen Sachverständigen zuzieht, da eine Menge Kleinigkeiten zu beachten sind, die sich nicht alle beschreiben lassen.

Beschreibung und Abbildung des nach Angaben von Lindner von der Firma F. W. Pest, Berlin N., Bergstrafse 8, konstruierten Reinzucht-Apparates.

Der Apparat unterscheidet sich von den schon vorhandenen Konstruktionen in vielen Punkten, so insbesondere durch die eigenartige Durchlüftungsvorrichtung, welche gleichzeitig die Stelle eines Rührwerks

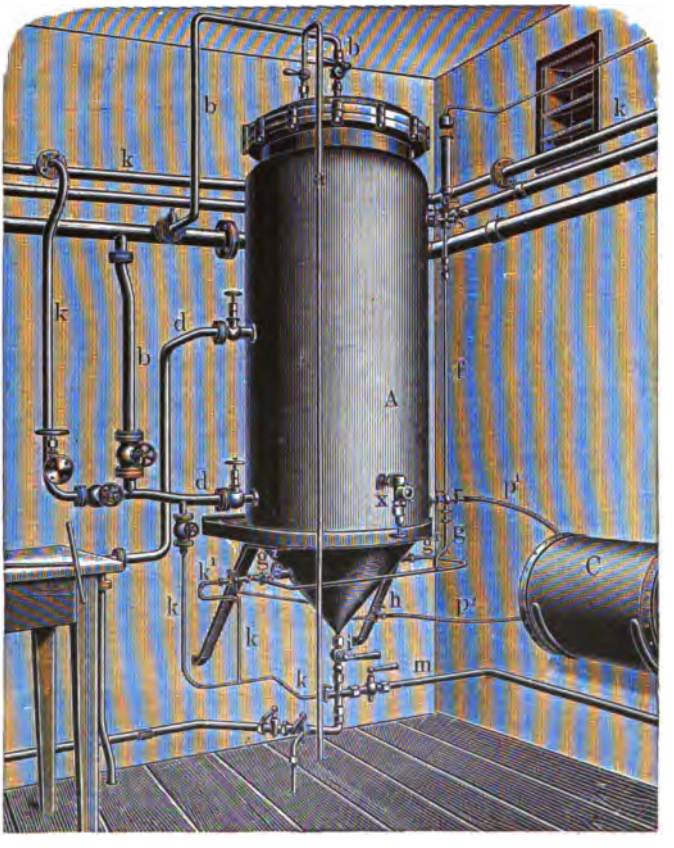


Abb. 87. Grofser Hefereinzuchtapparat nach Lindner (1).
Nach einer photographischen Aufnahme.

vertritt, ferner durch die Anordnung in der Verbindung des Hefegefäfses mit dem Hauptgefäfs weiterhin durch die Anbringung einer Wasserbrause zur bequemen Reinigung des Hauptgefäfses nach der jedesmaligen Entleerung.

Der Apparat besteht aus dem grofsen Sterilisier- und Gärgefäfs A und dem Hefegefäfs B bezw. C. A ist ein kupferner Cylinder mit festem, konischem Boden und abschraubbarem, flach gewölbtem Deckel. In A münden eine Anzahl Rohrleitungen, durch welche Luft, Würze, Wasser und Dampf zugeführt werden

können. An dem Deckel angebracht ist das gebogene Abzugsrohr a, durch welches die Luft bezw. die bei der Gärung entstehende Kohlensäure entweichen kann; b ist ein Wasserzuflufsrohr, das mit der Brause c endet.

Im Innern von A befindet sich die Schlange d, durch welche man Dampf bezw. Wasser cirkulieren lassen kann zwecks Erhitzung bezw. Abkühlung der Würze.

Am unteren Teil des Cylindermantels ist das Bierablafsventil x angebracht, durch welches die vergorene Würze am Ende der Gärung abgezogen wird. Der

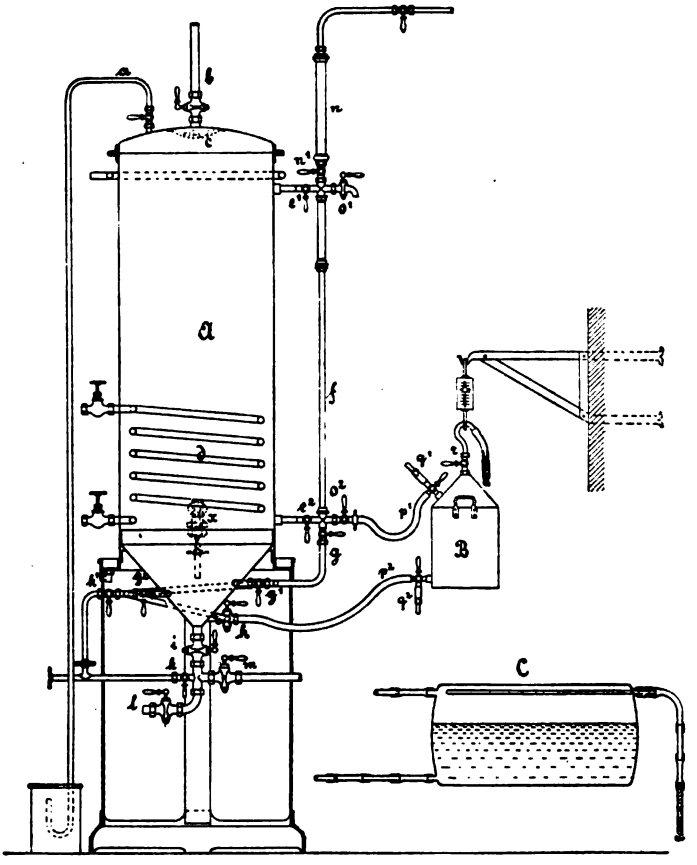


Abb. 88. Grofser Hefereinzuchtapparat nach Lindner (2).

konische Boden mündet an der Spitze in ein gröfseres kreuzförmiges Rohrstück aus, das vier Hähne trägt. Durch m steht das Rohr in Verbindung mit der Würzeleitung, durch k mit der Dampfleitung. Die Seitenwände des Konus sind durch die drei Durchlüftungsrohre g^1, g^2, h durchbohrt; dieselben reichen nur ein ganz kurzes Stück in das Innere von A hinein und sind knieförmig gebogen. Ihre Öffnungen sind so gestellt, dafs beim Durchlüften die Würze im Apparat sowohl an der Peripherie als in der Achse des Cylinders kräftig aufgewirbelt wird. Durch die aus g^1 und g^2 einströmende Luft wird die Würze überdies in eine wirbelnde Bewegung versetzt. h ist ein mit einem Dreiwegehahn versehener Stutzen, welcher vermittelst

eines Gummischlauches p^2 mit dem Hefegefäfs B oder der Trommel C verbunden ist. Die Rohre g^1, g^2 und h münden in das Rohr g, in dessen Verlängerung wir das Würzestandrohr f und das Luftfilter n gezeichnet sehen. Die beiden Stutzen e^1 und e^2 stellen die Verbindung des Würzestandrohres mit A her. Der Hahn o^2 ist durch einen Gummischlauch p^1 mit B verbunden. Der Hahn o^1 tritt in Funktion beim Ausdämpfen des Würzestandrohres bezw. der Rohre g, g^1, g^2 und h. Durch den Stutzen q^1 kann die Einführung des Aussaathefe erfolgen. C ist ein gröfserer kupferner Behälter mit drei Stutzen.

Die Hähne bei q^1 und q^2 sind ebenfalls Dreiwegehähne. An dem gebogenen Rohr bei r ist ein Gummischlauch und ein kleines Luftfilter befestigt.

Unter Umständen wird man davon Abstand nehmen, die Gärung in A bis zu Ende gehen zu lassen, um die Bodensatzhefe zu gewinnen, und dafür die in frischer Gärung befindliche Würze zum Anstellen benutzen. Die Entleerung kann hier auch durch i und l vorgenommen werden. Man behält nur so viel Flüssigkeit im Apparat

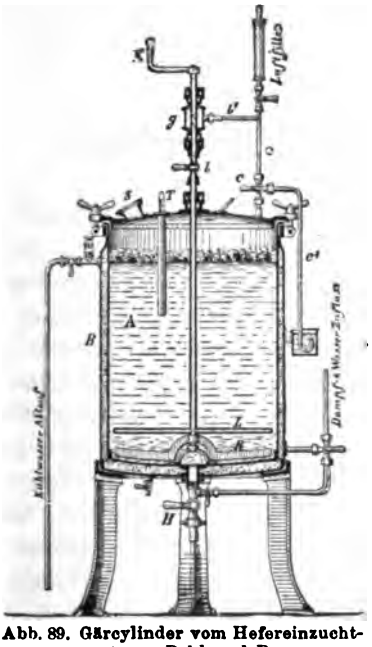


Abb. 89. Gärcylinder vom Hefereinzuchtapparat von Pohl und Bauer.

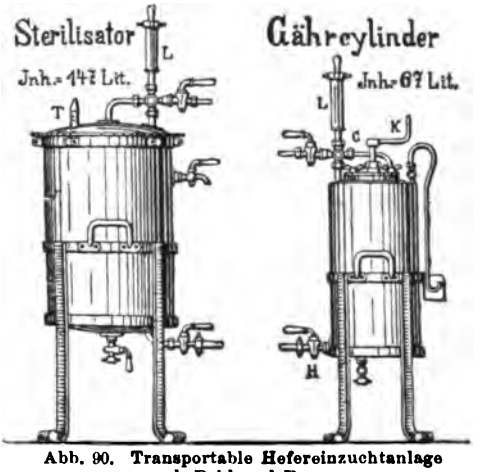


Abb. 90. Transportable Hefereinzuchtanlage nach Pohl und Bauer.

zurück, als nötig ist, um für die nächste Beschickung des Apparates B die genügende Menge Aussaathefe zu erhalten. Diesen Rest läfst man in B oder C zu Ende gären.

Vorstehender Reinzucht-Apparat ist u. a. in der Hefezuchtanstalt des Vereins der deutschen Spiritusfabrikanten aufgestellt und in einer Gröfse ausgeführt, dafs bequem 5 hl Würze darin zur Gärung gebracht werden können.

Neuerdings hat Wichmann (Wien) einen Apparat konstruiert, der ebenfalls für Vergärung gröfserer Würzemengen berechnet ist. Bei demselben ist die Trennung des Anstellapparates von dem Sterilisier- und

Gärcylinder in ähnlicher Weise durchgeführt wie bei dem Lindnerschen System.

Auch der Apparat von Jörgensen-Bergh zeigt eine derartige Anordnung, wenngleich in anderer Form. Der Apparat von Elion (Rotterdam) lehnt sich wieder mehr an das Hansensche Modell an.

Der Hefereinzucht-Apparat von Pohl und Bauer (D. R.-P.) zeigt von dem Kühle-Hansenschen Modell die Abweichung, daſs die Rührvorrichtung gleichzeitig zum Lüften benutzt wird. Das Charakteristische dieser Konstruktion ist auf Abb. 90 ersichtlich. Dasselbe Prinzip haben die Erfinder bei einer kleinen transportablen Reinzuchtanlage verwertet.

Die Ausführung dieser Apparate ist der Firma Franz Hochmuth, Dresden-A, übertragen.

§ 27. Die genauere Charakterisierung eines in Reinkultur erhaltenen Schimmelpilzes.

Die Schimmelpilze sind wegen der Mannigfaltigkeit der Formengestaltung und Entwicklung auſserordentlich interessante Pflanzen. Bei der Aussaat der einzelnen Spore zur Erzielung einer Reinkultur vergleiche man das auf Seite 170 Gesagte, achte auf die einzelnen Vorgänge bei der Keimung, ob die Spore anschwillt, ob eine äuſsere Sporenhaut abgeworfen wird, ob der Keimschlauch sogleich oder später erst Querwände anlegt oder ob er einzellig bleibt, ob bei der Verzweigung des Mycels gewisse Gesetzmäſsigkeiten in Erscheinung treten. Man verfolge genau die Entwicklung der Fruchtträger und die Anlage der neuen Sporengeneration. Haben wir durch das Heranreifen der letzteren das erste uns gesteckte Ziel erreicht, nämlich ein absolut reines Aussaatmaterial, dann können wir weitergehen und die verschiedensten Nährböden damit impfen. Wir studieren das Wachstum des Pilzes auf Würzegelatine, auf Kartoffel- und Brotscheiben, auf Reisbrei, auf Gersten- und Malzkörnern, in verschiedenen Zuckerlösungen mit verschiedenen Nährsalzen und Stickstoffkörpern (Amide, Peptone, Ammonsalze), in steriler Würze u. dgl. m. Sehr gute Belehrung über dergleichen Kulturversuche wird man aus den Wehmerschen Arbeiten schöpfen können. (Wehmer: Beiträge zur Kenntnis einheimischer Pilze. Verlag von Gustav Fischer, Jena 1895.) Wir achten auf die Veränderungen, welche diese Nährböden durch die Kultur des Pilzes erfahren, ob eine Säuerung, oder eine Gärung, oder eine reichliche Krystallausscheidung, oder ein fremdartiger Geruch oder Geschmack zum Vorschein kommt. Wir stellen auch noch Versuche an über den Einfluſs der verschiedenen Temperaturen auf die Lebensthätigkeit des Pilzes, bestimmen die Grade, bei welchem

die Keimung und Entwicklung anhebt und aufhört und bei welchen das Optimum für das Wachstum und die Fruktifikation liegt.

Bezüglich dieser Kardinalpunkte ist zu bemerken, dafs sie mit der Nährlösung, mit der Konzentration und auch der mehr oder weniger sauren oder alkalischen Reaktion sich um eine Anzahl Grade ändern können. (Vergl. R. Thiele: „Die Temperaturgrenzen der Schimmelpilze in verschiedenen Nährlösungen." Inaug.-Dissert. Leipzig 1896.) Bei manchen Schimmelpilzen treten in der Kultur mancherlei Variationen ein; es kann die Fruktifikation ausbleiben, charakteristische Gerüche können verschwinden oder stark zurücktreten, in der Färbung können Abweichungen vorkommen.

Bei einigen wird man, ähnlich wie bei Hefen, eine Rassenspaltung beobachten können, die mehrere Generationen hindurch besondere Eigenschaften aufweisen.

Charakteristisch für manche Arten ist ihr Vermögen, Racemkörper zu spalten und einen Teil der aktiven Formen zu verzehren, so dafs die andre Komponente allein übrig bleibt. (Näheres darüber findet man in Landolt: Optisches Drehungsvermögen 1898. Vieweg, Braunschweig.) Es sei hier nur noch angedeutet, dafs das Verhalten von Schimmelpilzen gegenüber Racemkörpern noch wenig studiert ist und dafs man früher gewöhnlich nur mit unreinem Material gearbeitet hat. Man verfuhr so, dafs man pro Liter 3—5 g von dem Racemkörper und dann noch Nährsalze, z. B. 1 g Kaliumphosphat und 0,2 g Magnesiumphosphat löste und in der Flüssigkeit die Schimmelsporen aussäete. Gegen Bakterienwucherungen sicherte man sich durch Zugabe von etwas Phosphorsäure oder Schwefelsäure.

Manche Schimmelpilze zeigen bei dem Wachstum unter Luftabschlufs eigentümlich morphologische Differenzierungen, z. Mucer race mosus. Wir können diese Bedingungen in einfachster Weise durch ein sog. Vaselineinschlufspräparat erzielen, vgl. Seite 150 Abb. 82. Manche Pilze vermögen auch durch das Vaselin zu wachsen. Zweckmäfsig ist es, unter dem Deckglas einige Luftblasen zu belassen, wenn man vorerst ein kräftigeres Wachstum erzielen will, ehe schliefslich Sauerstoffmangel eintritt.

Um sich über den Einfluſs der Konzentration einer Nährlösung auf die Keimung und das Wachstum an Pilzen schnell zu orientieren, dürfte folgendes Verfahren sehr geeignet sein: Man trägt die Nährlösung mit dem Pilz mittelst einer Feder in nicht zu dicken kurzen Strichen auf das Deckgläschen in mäfsig langen Zwichenräumen auf, so ungefähr, dafs beim letzten Strich der erste schon eingetrocknet ist. Die einzelnen Striche, vorausgesetzt, dafs sie einigermafsen gleich angelegt wurden, was bei einiger Übung sehr gut möglich ist, geben eine Stufenleiter abnehmender Konzentration (Abb. 91).

Da die Schimmelpilze meist aus dem Tröpfchen heraus Lufthyphen bilden, die im hohlen Objektträger mit dem Mikroskop nicht mehr zu

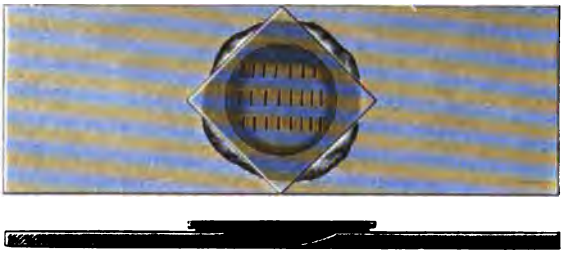


Abb. 91. Tröpfchenkultur. Die Nährlösung ist in gleichmäfsig dünnen Strichen aufgetragen.

erreichen sind, ist eine Kultur zwischen flachem Objektträger und Deckgläschen angezeigt, nach Art der Abbildung 92.

Diese Kultur setzt voraus, dafs der Vaselinring schon aufgetragen ist, ehe das Deckgläschen aufgelegt wird.

Von Interesse ist es oft, zu erfahren, welche morphologischen Veränderungen ein Pilzfaden erfährt, wenn er in eine andere Nährlösung

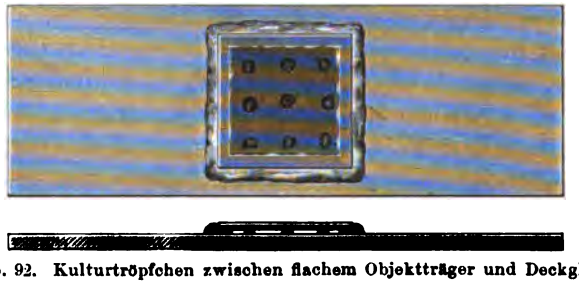


Abb. 92. Kulturtröpfchen zwischen flachem Objektträger und Deckglas.

hineingerät. Hier kann man ähnlich vorgehen, nur ändert man die eben erwähnte Methode dahin ab, dafs man die Tröpfchen verschiedener Nährlösungen dichter nebeneinander gruppiert, so dafs der Pilz den Luftzwischenraum schneller überdrückt. Dann auch drückt man das Deckglas nicht so tief in den Vaselinring ein, dafs die Tröpfchen den flachen Objektträger berühren. Es könnte sonst leicht vorkommen, dafs sie dann ineinanderlaufen.

§ 28. Die genauere Charakterisierung einer in Reinkultur erhaltenen Hefenart.

Bei den Hefen treten uns keine so krassen Unterschiede in der **Gestaltung und Vermehrungsweise** entgegen wie bei den Schimmelpilzen. Die Einförmigkeit in dem Bau der Hefen nötigt uns aber umsomehr, auf jedes Merkmal, das sich uns

darbietet, sorgfältig zu achten. Schon bei dem Isolieren und bei der Herstellung der Reinkultur mit Hilfe der Tröpfchen- oder der Gelatinemethode bietet sich uns dazu die Gelegenheit. Wir orientieren uns über die Gröfsen- und Formverhältnisse der Aussaatzellen, über die Vorgänge bei dem Wachstum und der Vermehrung — ob dieselbe durch Sprossung oder Spaltung oder mycelartige Gliederung erfolgt —, über die Vorgänge und Erscheinungen im Zellinnern — ob die neu entstandenen Zellen homogenen oder körnigen Inhalt führen, ob grofse Safträume, Vakuolen sich bilden, ob stark glänzende Fetttröpfchen erscheinen, ob von einem Zellkern und einer Teilung desselben etwas zu sehen ist. Wir können weiter feststellen, ob die junge Generation noch im Zusammenhang mit der Mutterzelle bleibt (Sprofsverbände, Sprofsbäumchen, Sprofsmycelien) oder ob eine frühzeitige Trennung erfolgt, ob das Auswachsen der Zellen an gewissen Stellen, z. B. an den Polen, häufiger vor sich geht als an andern, ob an der Trennungsstelle oder innerhalb der Zellen Querwände auftreten, ob durch Membranquellung die Nachbarzellen sich in weiten Abständen voneinander lagern. Mit dem Heranwachsen der Nachkommenschaft zu einem gröfseren Hefenfleck können wir auch makroskopisch denselben wahrnehmen. Wir mikroskopieren bei schwacher Vergröfserung und sehen zu, ob die Kolonie im durchfallenden Licht sehr viele und grobe Schatten wirft oder ob sie nur ein wenig das Licht dämpft. Wir achten darauf, ob einzelne Zellstränge aus dem Tropfen herauswachsen, sei es am Deckgläschen entlang oder frei in die Luft, oder ob ganze Zellgruppen wie eine Haut sich an der Oberfläche des Tropfens ausbreiten. In letzterem Falle ist noch festzustellen, ob die Zellen vollständig oder nur teilweise von der Flüssigkeit benetzt werden. Die nicht benetzten Stellen werden uns durch einen stärkeren Lichtglanz in der mittleren Zone und durch tiefschwarze breite Umrisse auffallen; desgleichen wird uns bei schwacher Vergröfserung und bei bestimmter Einstellung des Präparates das Erscheinen schwarzer Punkte und Streifen bemerkbar werden, die durch Depressionen der oberflächlichen Schicht des Tropfens verursacht sind.

Ist die Tröpfchenkultur älter geworden, dann richten wir das Augenmerk auch darauf, ob eine Bildung von Sporen innerhalb der Zellen Platz greift, ob die sporenführenden Zellen innerhalb des Haufens gruppenweis zusammenliegen oder mehr gleichmäfsig darin verteilt sind, ob die Sporen die Membran der Mutterzelle sprengen oder stellenweise auflösen oder ob sie von derselben dauernd umschlossen gehalten werden. Mit dem Alter der Kultur werden auch die nicht sporenbildenden Zellen ihr Aussehen verändert haben; das Plasma ist vielleicht körniger geworden, die Vakuolen haben ihre bestimmte Form verloren; vielleicht auch sind Fetttröpfchen ähnliche Gebilde in gröfserer Zahl aufgetreten.

Die zuletzt gebildeten Zellen zeigen womöglich auch in der Form und Gröfse bedeutende Abweichungen von den Zellen der ersten Generationen.

Nach erfolgter Überimpfung eines Teiles der Zellen des Tröpfchens auf eine Würzegelatine können wir noch die Wirkung des Eintrocknens auf die zurückgebliebenen Zellen studieren. Es kann namentlich in den körnigen Zellen eine Scheidung der stark lichtbrechenden und der schwächer lichtbrechenden Bestandteile der Zelle eingetreten sein, wodurch die Zellen ein ganz verändertes Aussehen bekommen.

Hatten wir die Reinkultur nach der Gelatinemethode angefertigt, dann bot sich uns Gelegenheit, das Wachstum zur Kolonie zu verfolgen und mit dem der andern Kolonien, die gleichzeitig im Präparat vorhanden waren, zu vergleichen. Innerhalb der ersten 24 Stunden wird man noch die einzelne Zelle genauer beobachten können.

Mit den wenigen Zellen, die wir aus dem Tröpfchen oder aus der Gelatine mit dem Platindraht herausgeholt haben, können wir weder gute Impfstriche, noch Impfstiche, noch Riesenkolonien anlegen. Wir müssen also erst eine weitere Vermehrung der Hefe veranlassen. Dies geschieht am zweckmäfsigsten in Gelatineröhrchen oder in Würzefläschchen.

Von der ersten Gärung in Würze versäumen wir nicht, nochmals eine Tröpfchenkultur anzusetzen, und zwar sollen möglichst viele von den Tröpfchen oder schmalen Würzestrichen nur eine einzige Zelle enthalten. Bei manchen Hefen werden wir eine sonderbare Verschiedenheit der Entwicklung beobachten, z. B. beim Schizosaccharomyces octosporus. In dem einen Tröpfchen werden sich hier fast nur sporenbildende Zellen einstellen, während in einem anderen Sporen gar nicht zur Entwicklung kommen.

Diese Methode führt uns so recht in das Wesen der Individualität bei Zellen derselben Art ein.

Hier werden wir auch häufig genug beobachten, dafs manche Zellen in der Flüssigkeit nur spärlich vegetieren, während andere üppig sich vermehren, dafs die einen tagelang ihr Wachstum einstellen können, um dann plötzlich an einer Stelle wieder damit fortzufahren — oder definitiv abzusterben, trotz Anwesenheit guter Nährstoffe, trotz Vorhandenseins von Sauerstoff u. s. w.

Bei Hefen, welche in den Tröpfchenkulturen schon auffallende Unterschiede aufweisen, steht ein Gleiches in Aussicht bei der Übertragung auf feste Nährböden.

Beijerinck hat gezeigt, wie bei einer sog. Oberflächenaussaat auf eine Würze-Agar-Platte Schizosaccharomyces octosporus verschiedene Kolonien entwickelt: weifse, braune und hellbräunliche. Erstere enthalten nur oder vorwiegend sporenhaltige Zellen, die braunen sporenfreie, die letzeren eine Mischung beider. Auch S. fragrans spaltet sich

in drei morphologische, in der Form der Kolonien sehr verschiedene Varitäten, die jedoch physiologisch sich identisch verhalten.

Bei der Oberflächenaussaat kommt es darauf an, dafs die aus den Zellen sich entwickelnden Kolonien nicht zu dicht bei einander stehen. Man vermeidet dies, indem man wenig Hefe in viel Flüssigkeit verteilt. Diese Flüssigkeit gieſst man dann über die Agarfläche. Nach dem Abfliessen werden noch genügend Zellen haften geblieben sein.

Für die **Impfstrichkulturen** verwenden wir einmal Reagenzgläschen oder viereckige Fläschchen (Abb. 94), in denen die Gelatine mit schräger Fläche erstarrt ist, oder Luftcylinder mit dünnem Gelatinebelag (Abb. 93). Bei der Impfung wird es sich empfehlen, die Hefe mit steriler Würze oder sterilem Wasser vermischt aufzutragen und die Gelatineoberfläche unverletzt zu lassen.

Abb. 93.
Impfstrichkulturen auf dünner Gelatineschicht.

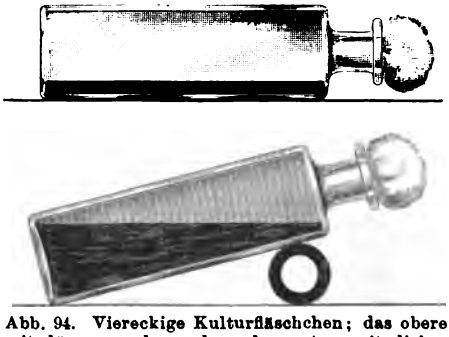


Abb. 94. Viereckige Kulturfläschchen; das obere mit dünner und gerader, das untere mit dicker Gelatineschicht und schräger Impffläche.

Die **Impfstichkulturen** werden am besten in Reagenzgläschen angelegt, deren Gelatineinhalt bei vertikaler Stellung jener erstarrt ist. Aus der Entwicklung des Stiches werden wir Schlüsse auf das Sauerstoffbedürfnis des Organismus ziehen können. Bei luftliebenden Arten wird die Entwicklung nur in den oberen Teilen und auf der Oberfläche der Gelatine eine üppige sein.

Die Stichkulturen zeigen uns aber auch an, ob die Zuckerarten, welche in der Gelatine vorhanden sind, durch die betreffende Hefe vergoren werden. Wir werden uns zweckmäſsig verschiedene Gelatinen vorrätig halten, zum wenigsten solche mit den wichtigeren Zuckerarten. Da, wo Gärung stattfindet, wird die Gelatine zerklüftet. Wir werden hierbei die auffallende Erscheinung wahrnehmen, dafs die Kohlensäureblasen nicht immer unmittelbar am Stich auftreten; oft kommen sie über 1 cm abseits zum Vorschein. Die Kohlensäure mufs also in flüssiger Form diesen Weg durch die Gelatine zurückgelegt haben. Aufser Reagenzgläschen eignen sich für Stichkulturen auch schmale, parallel-

wandige Fläschchen von ca. 30—40 ccm Inhalt (Abb. 96). Namentlich solche Hefen, die strahlige Ausläufer bilden, geben hier sehr gute Bilder, da das Wachstum nach zwei Seiten sich besonders üppig entfalten kann. In ein solches Fläschchen kann man auch mehrere Impfstiche mit verschiedenen Hefen ausführen, und man wird hier an der Menge oder an dem Fehlen von Spalten in der Gelatine einen oberflächlichen Vergleich ziehen können, welche Hefe kräftiger gärt. In Molkengelatine beobachtete Verf. bei der Impfstichkultur einer Hefe aus armenischen Mazun die Bildung eines prächtigen pfirsichblütroten Farbstoffes dicht unterhalb der Oberfläche.

Kultur auf dünner Gelatineschicht. In den Kulturen mit dicker Gelatineschicht werden wir mehr kräftige, in den anderen mehr durchsichtige oder durchscheinende Beläge erhalten; bei jenen achten wir

a b

Abb. 95. Flächenkulturen; die Aussaat ist auf einer gröfseren Fläche gegeben worden; b etwas von der Seite gesehen.

Abb. 96. Darstellung einer Impfstichkultur von einer Hefe in Nährgelatine.

besonders auf die Oberflächengestaltung, bei diesen auf die seitliche Ausstrahlung und die durch die verschiedene Schichtendicke entstehenden Durchsichtsbilder. Jene werden mit dem Alter immer unansehnlicher werden, indem der Belag vielleicht, ebenso wie die Gelatine darunter, weich und flüssig wird, wohingegen die „Kulturen auf dünner Gelatineschicht“ ihr gutes Aussehen behalten und infolge der fortschreitenden Wasserverdunstung ganz allmählich in ein Dauerpräparat sich umwandeln. Da sich in diesen Kulturen Sporen bilden können, unterlassen wir nicht, von Zeit zu Zeit darauf zu prüfen.

Flächenkulturen nennt Verf. solche Impfungen, wo auf breiter Fläche die Aussaat aufgetragen wird (Abb. 95). Hierzu eignen sich besonders die vorhin schon erwähnten viereckigen Glasfläschchen, in denen die Gelatine schräg erstarrt ist. Hier treten nicht blofs an den Rändern, sondern auch auf der Impffläche selbst charakteristische Erscheinungen

auf. Im Gegensatz zu der vorhin erwähnten Methode der Oberflächenaussaat werden hier die Zellen so dicht nebeneinander ausgesäet, dafs sogleich ein zusammenhängender Belag sich bildet. Die Flächenkulturen namentlich bei Kahmhefen geben überaus hübsche Bilder.

Gelatineverflüssigung. Vorhin wurde schon erwähnt, dafs die Gelatine mit der Zeit durch die Hefe verflüssigt werden kann. Einzelne Hefen vermögen allerdings diese Veränderung (Peptonisierung) nicht zu bewirken; andere — ein ausgezeichnetes Beispiel hierfür ist Endoblastoderma liquefaciens — verflüssigen sehr zeitig, bereits nach einigen Tagen, die Gelatine.

Bei wiederholten Kulturen, die zeitlich weit auseinanderliegen, findet man bei denselben Hefen nicht immer dasselbe Verhalten der Gelatine gegenüber; einmal kann die Verflüssigung zeitig, das andere Mal sehr spät oder gar nicht auftreten.

Nach Beijerinck ist das wirksame Prinzip hierbei gewöhnlich das Trypsin, das von den Hefezellen namentlich vor dem Absterben in reichlicher Menge ausgeschieden wird. Vielleicht giebt es aber auch Arten, welche Pepsin ausscheiden.

Ob man es im gegebenen Falle mit einer Pepsin- oder Trypsinwirkung zu thun hat, entscheidet nach Beijerinck das Verhalten gegenüber einer alkalisch oder sauer gemachten Gelatine. Pepsin verflüssigt noch sehr gut bei einem Gehalt der Gelatine an 10 ccm Normalsäure pro 100; bei 1 ccm ist die peptische Wirkung sehr gering; bei 1 ccm Normalalkali findet gar keine mehr statt. Anders bei Trypsin, dessen optimale Verflüssigungskraft bei 2—3 ccm Normalalkali liegt; bei 10 ccm Normalsäure verflüssigt Trypsin überhaupt nicht mehr, höchstens noch bei 6 ccm Normalsäure.

Hervorzuheben ist die auch von Beijerinck festgestellte Thatsache, dafs von Schizosacch. octosporus die asporogene Rasse weniger Trypsin ausscheidet und infolgedessen auch weniger die Gelatine verflüssigt als die sporogene Rasse, bei der durch das Platzen der Sporenmutterzellen das Trypsin in Freiheit gelangt.

Nach Will scheint die Verflüssigung eine Folge des Nahrungs- und Sauerstoffmangels zu sein und nicht eine Funktion langsam absterbender oder sich auflösender Zellen.

Auf der verflüssigten Gelatine bilden sich ähnliche Häute wie in lange gestandenen Würzekulturen. — Bei dem Wachstum auf Gelatine erfährt die Zellform oft weitgehende Veränderungen. Im allgemeinen ist die Tendenz zur Längsstreckung und zur Bildung mycelialer Verbände vorherrschend; manchmal erscheinen auch amöboide Formen, wie z. B. bei den Hefen 76 und 77. Selbst in verflüssigten Kulturen bleiben die Zellen noch lange lebensfähig, ja sogar in Kulturen, wo die Gelatine

sirupartig eingedickt ist. Länger als ein Jahr[1]) darf man jedoch mit dem Überimpfen nicht warten, da man sonst doch Gefahr läuft, dafs die neue Impfung nicht angeht. Aus sirupartiger Gelatine entnommene Zellen gehen in Würze bei weitem schwieriger an, als auf frischer Würzegelatine, offenbar aus dem Grunde, weil dort die Zellen durch die zu rasch eingreifenden osmotischen Prozesse geschädigt werden, während sie sich auf der Gelatine ganz allmählich, an die neuen Verhältnisse gewöhnen können.

In Würze erholen sich die Zellen nur sehr allmählich, und mufs man erst wiederholt auffrischen, ehe man eine kräftige Hefe erhält. Verhältnismäfsig kräftig und mit am längsten lebensfähig bleiben die auf

Abb. 97. Einzelne Riesenkolonie in einem Kulturkölbchen.

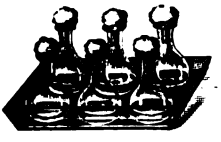


Abb. 98. Schale mit dünner Schicht von Wasser und Alkohol zur Aufnahme von Kulturkölbchen.

Abb. 99. Mehrere Riesenkolonien in einem Kulturkölbchen auf Nährgelatine gewachsen.

dünner Gelatineschicht gewachsenen und später eingetrockneten Zellen. Wenn längst der Bodensatz unter der verflüssigten Gelatine abgestorben war, zeigte die angetrocknete Hefe im oberen Teil der Impfstrichkultur noch Leben.

Die **Anlage von Riesenkolonien** erfolgt am besten in Glaskölbchen, deren Boden mit einer ca. 2 cm starken Gelatineschicht bedeckt ist. Abb. 97—99. Die Impfung wird in der Mitte in Form eines Tropfens aufgetragen. Es wird sich empfehlen, mehrere solcher Kulturen von derselben Hefe bei verschiedenen Temperaturen zu führen. Für gewisse Gruppen, z. B. für obergärige Hefen, ergeben sich bei Temperaturen von ca. 12° C. oft charakteristischere Bilder als bei höheren. Die Kulturgefäfse müssen an Orten aufbewahrt werden, die frei von einseitiger Wärmestrahlung sind, da sich sonst Kondenswasser

[1]) Verf. hat jedoch auch nach vier Jahren in solchen Kulturen noch lebensfähige Zellen angetroffen.

an der Wandung niederschlägt, durch dessen Herabfliefsen die gleichmäfsige Entwicklung der Kolonie gefährdet werden kann.

Um nach Möglichkeit das Auftreten von Tau an den inneren Glaswandungen zu verhindern, dient als bestes Mittel das vom Verf. mehrfach erprobte Verfahren, die Kulturkolben in eine flache Glasschale zu stellen, in die ca. 1—2 cm hoch eine Mischung von Alkohol und Wasser gegossen wird (Abb. 98). Durch die Verdunstung tritt eine Abkühlung ein, die sich auch auf die Gelatine überträgt. Diese trocknet auch nicht so schnell unter solchen Umständen ein.

Zu Vergleichszwecken wird man mit Vorteil in demselben Kulturkölbchen mehrere Hefen einimpfen können.

Beim Anblick solcher Kolonien drängt sich einem die Frage auf, wodurch die verschiedene Wachstumsweise bedingt ist. Eine teilweise Aufklärung erhalten wir, wenn wir die Kolonie vorsichtig mit Wasser abspülen, bis wir auf die Gelatine kommen. Bei konzentrisch gezeichneten Kolonien finden wir am Grunde ebenfalls und noch viel schärfer ausgeprägt konzentrische Kreise, in denen sich die Hefe festgewurzelt hat. Die Hefe am Grunde geht gewissermafsen sprungweise vor.

Abb. 100. Kolonien auf dünner Gelatineschicht gewachsen.

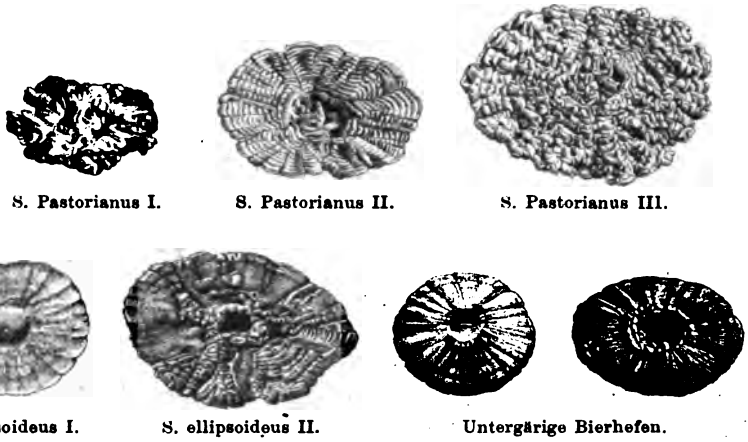
Manche Riesenkolonien, z. B. von vielen untergärigen Brauereihefen, lassen sich vollständig von der Gelatine abheben, ohne dafs von dieser etwas mitgerissen wird; andere Hefen fressen sich dagegen tief in sie ein und bilden nach unten traubenähnliche Massen.

Störend wirkt oft das Auftreten von Kohlensäureblasen unterhalb der Kolonie; namentlich bei obergärigen Hefen bekommt man aus diesem Grunde oft mifsratene Riesenkolonien. Will man Riesenkolonien längere Zeit konservieren, dann mufs man die Gelatine, welche, namentlich im Sommer, bei steigender Temperatur leicht schmilzt, Formalindämpfen aussetzen, was am einfachsten in der Weise geschieht, dafs man den Wattepfropf in Formalinlösung taucht. Die Dämpfe bewirken ein Verhärten der Gelatine. Natürlich stirbt aber die Kultur bei der Einwirkung dieses aufserordentlich kräftigen Antiseptikums ab.

Die prächtigsten Dauerpräparate erhält man durch Kultur der Hefen auf einer dünnen Gelatineschicht, sei es in einem viereckigen Fläschchen (Abb. 94) oder in einem Präparatenglas wie in Abb. 100. Die Hefennummer wird mit dem Diamant aufsen eingeritzt. Die Kolonien wachsen in dünnen Scheiben strahlenförmig aus und zerteilen sich mit zunehmendem Alter bei gleichzeitigem Eintritt von Nahrungsmangel und Trockenheit in ein zartes Wurzelsystem.

Im allgemeinen zeigen die Riesenkolonien derselben Hefe auch in

zeitlich weit auseinanderliegenden Kulturen eine grofse Übereinstimmung. Es kommen natürlich auch Ausnahmen vor, die jedenfalls mehr auf den physiologischen Zustand der Zellen bei der Aussaat als auf die Zusammensetzung der Nährgelatine zurückzuführen sind. Verfafser hat in der Wochenschrift für Brauerei 1893 Seite 692 eine gröfsere Anzahl von Riesenkolonien auf Lichtdrucktafeln veröffentlicht, und es geht aus diesen Bildern hervor, dafs selbst durch starke Änderungen in der Konzentration und Zusammensetzung des Nährbodens der Wachstumstypus der Kolonien nur wenig alteriert wird. Von gröfserem Einfluſs ist die Temperatur, doch sind hier systematische Versuche noch nicht angestellt worden; sie sind auch mit gewissen Schwierigkeiten verknüpft, da verschiedene Thermostaten dazu erforderlich wären. Im Panum'schen Thermostaten



S. Pastorianus I. S. Pastorianus II. S. Pastorianus III.

S. ellipsoideus I. S. ellipsoideus II. Untergärige Bierhefen.

Abb. 101. Riesenkolonien von verschiedenen Hefen. (Nach Photogr. des Verf.)

tritt wegen der einseitigen Wärmestrahlung eine reichliche Bildung von Kondenswasser auf, die sehr störend wirkt. Es ist wiederholt beobachtet worden, dafs etwaige Abweichungen im Wachstum der Kolonien später bei neuen Kulturen wieder verschwanden, selbst wenn von den abweichend ausgebildeten Kolonien abgeimpft worden war.

Das Verhalten der Hefen in den Riesenkolonien wird uns in bequemer Weise auch bei der genaueren biologischen Analyse der gärenden Flüssigkeiten Anhaltspunkte darbieten zur Entscheidung der Frage, ob wir verschiedene Arten vor uns haben. Wir werden zweckmäfsig die isolierten Hefen in ein Kölbchen überimpfen (Abb. 99) und hier ihre Entwicklung verfolgen. Schon nach wenigen Tagen kommen mitunter schon scharfe Unterschiede im Wachstum zum Vorschein. Das Überimpfen verschiedener Kolonien auf ein Kölbchen ist deshalb anzuempfehlen, weil die Aussaathefen dann dieselben Kulturbedingungen vorfinden.

Es wäre im höchsten Grade unrationell, wollte man von den Merkmalen, die das Wachstum der Hefen auf festen Nährböden bietet, zur

Unterscheidung und Charakterisierung der Hefen nicht ausgiebigen Gebrauch machen, zumal gerade dieses Auskunftsmittel so bequem anzuwenden ist und wir aufser der Mühe der Aussaat fast gar keine Arbeit dabei haben.

Bezüglich der Frage nach der Konstanz der Erscheinung bei der gleichen Hefe geben die von Hansen bei S. Ludwigii, von Beijerinck bei Schizosaccharomyces octosporus ermittelten Thatsachen der Spaltung der betreffenden Arten in morphologische Varietäten einige Fingerzeige.

Je nachdem Zellen von der einen oder anderen Varietät bei der Aussaat vorwiegend vertreten sind, werden auch die Riesenkolonien sich verschieden in Wuchs und Aussehen zeigen.

Die **Prüfung der Hefen auf Sporenbildung** bildet ein weiteres Mittel zu ihrer Charakterisierung. Da die Sporen aus dem Plasma der Zelle entstehen, ist es selbstverständlich, dafs wir nur kräftige Zellen zu der Sporenkultur verwerten können. Wie können wir aber die in unseren Gelatinekulturen erhaltenen Hefen auffrischen? Wir bringen mit dem Platindraht eine Öse voll Hefe in ein Würzefläschchen mit ca. 10 ccm Würze und lassen dieselbe einen Tag lang bei Zimmertemperatur stehen. Am nächsten Tag gieſsen wir die Würze vom Bodensatz ab und füllen aus einem anderen Fläschchen neue Würze ein, die wir jetzt in einem auf 25° C. eingestellten Thermostaten der Gärung während 24 Stunden überlassen. Die erhaltene Bodensatzhefe wird in der Regel eine genügende Anzahl für die Sporulation gekräftigter Zellen enthalten. Übrigens ist es mit dem kräftigen Inhalt durchaus nicht gethan. Der oben schon erwähnte Schizosaccharomyces octosporus besitzt in seiner asporogenen Rasse genügend plasmareiche Zellen und giebt doch keine Sporenbildung. Der S. farinosus, den Verf. aus Danziger Jopenbier isoliert hat, und der anfänglich überreichliche Sporenbildung aufwies, ist nach mehrjähriger Kultur auf Würzegelatine vollkommen asporogen geworden. Hansen hat durch längere Kultur der Hefe bei höheren Temperaturen ebenfalls den Verlust der Sporenbildung konstatieren können. —

Wir haben es hier mit inneren Veränderungen zu thun, für die wir keine genügende Aufklärung geben können. Innerhalb der vergorenen Würze werden wir nur in ganz seltenen Fällen — so bei Gärungen mit Saccharomyces Ludwigii, Schizosaccharomyces Pombe und Saccharomyces Bailii, S. Zopfii — eine Sporenbildung beobachten können. Die günstigste Bedingung dafür bietet eine poröse, mäfsig feucht gehaltene Unterlage und reichlicher Luftzutritt. Zur festen Unterlage wählen wir einen Gipsblock. Wichmann schlägt auch poröse Thonplatten vor.

Zur Herstellung der Gipsblöcke verrühren wir in einer gröfseren Schüssel gleiche Teile von pulverisiertem, gebranntem Gips

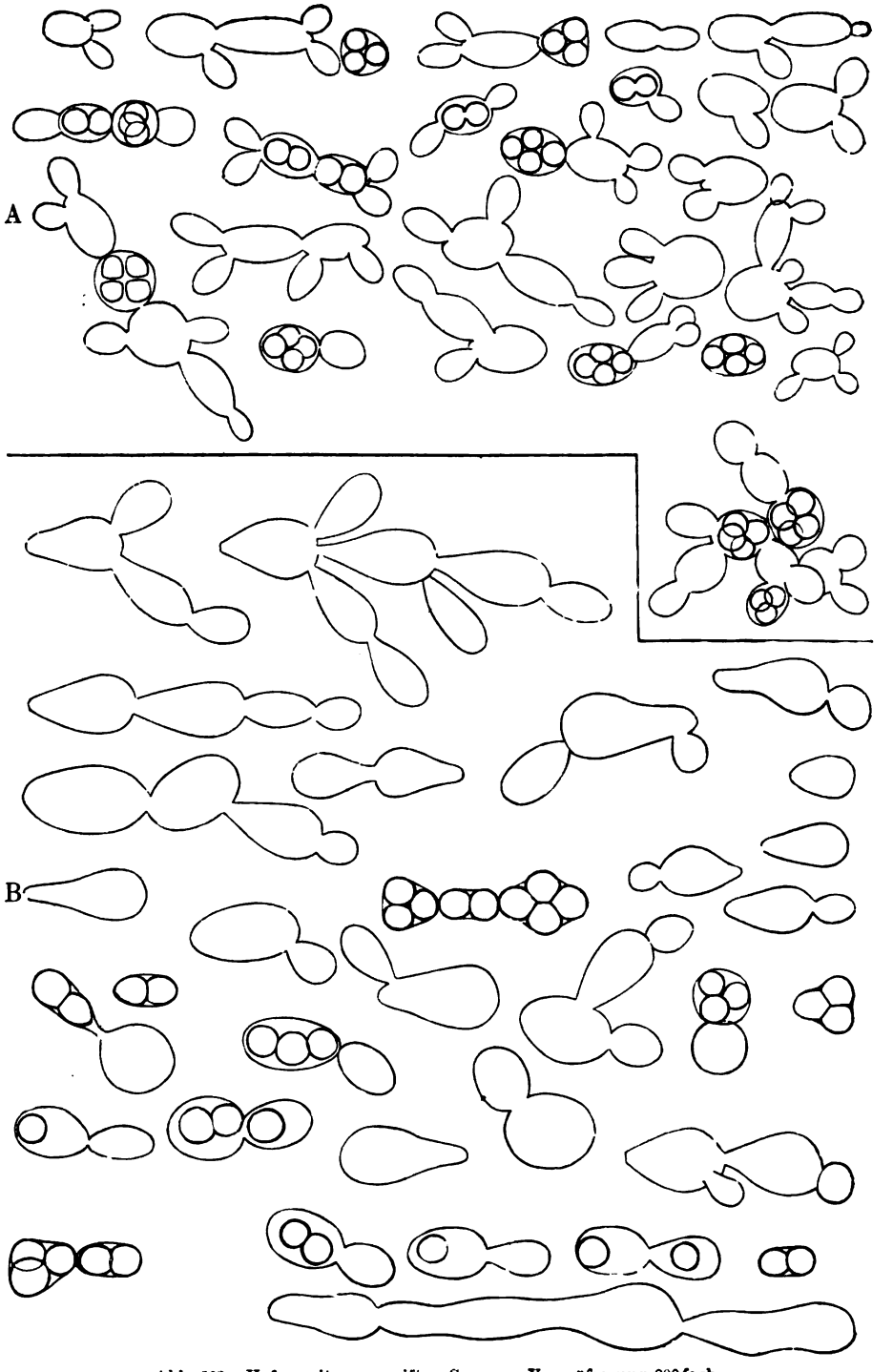


Abb. 102. Hefen mit ausgereiften Sporen. Vergrößerung 900fach.
A Saccharomyces cratericus (Nr. 51 der Berliner Sammlung). B Obergärige Brauereihefenrasse mit vorwiegend birnförmigen Zellen.

(Verbandgips) und Wasser, bis ein gleichmäfsiger dicker Brei entsteht, in dem keine gröberen Klumpen mehr vorhanden sind. Diese Gipsmasse gieſsen wir in eine Anzahl kleiner, am besten vernickelter Blechformen (siehe Abb. 103) und klopfen diese so lange auf die Tischplatte auf, bis die Luftblasen aus dem Gips entwichen sind; dann lassen wir die Blechformen ruhig stehen, bis die Masse fest wird. Falls der Block aus der Form nicht ohne weiteres herauszuklopfen ist, helfen wir durch Erhitzen der Blechform nach. Zur Sterilisation des fertigen Gipsblockes legen wir ihn eine halbe Stunde in kochendes Wasser. Indem wir nachher das ganze Kochgefäfs mitsamt dem Wasser und Gipsblock abkühlen, haben wir sogleich steriles Wasser und einen schon angefeuchteten Block zur Verfügung. Wir gieſsen dann von ersterem etwas in ein steriles Glasschälchen und legen den Block hinein. Ist der Gipsblock grofs genug, dann können wir mit einem dicken Nagel verschiedene Felder abteilen und diese irgendwie bezeichnen, vielleicht mit I, II, III, IV. Auf jedes Feld können wir eine besondere Hefenprobe auftragen. Das Ganze wird dann in ein gröfseres Glas-

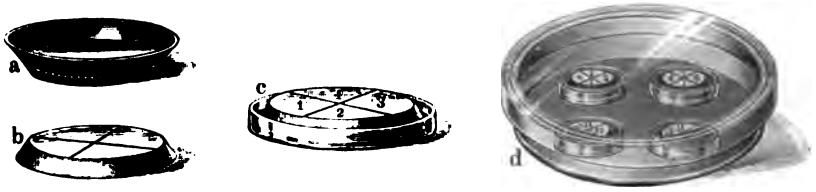


Abb. 103. Apparate zur Sporenkultur der Hefe auf Gipsblöcken.
a Blechform zu dem Gipsblock b. c Gipsblock in ein Glasschälchen mit Wasser gebracht.
d Feuchte Kammer.

schalenpaar, dessen Boden mit einer doppelten Lage angefeuchteten Fliefspapieres bedeckt ist, gebracht und in den Thermostaten gestellt.

Die aufzutragende Hefe mufs möglichst von Würze und Bier befreit sein. Um dies zu erreichen, gieſsen wir die in dem Auffrischfläschchen über der Bodensatzhefe befindliche Flüssigkeit sehr behutsam ab. Wir lassen nur eben so viel davon zurück, dafs die mehr oder weniger fest abgesetzte Hefe beim Schütteln noch ins Fliefsen kommt. Wir flambieren nun den Hals des Auffrischgläschens, lassen einige Zeit erkalten und gieſsen dann die Hefe auf den Gipsblock aus, wobei wir mit dem Glasrand des Fläschchens den Brei gleichmäfsig auszubreiten suchen.

Zu einer ausführlicheren Charakteristik der Hefen gehört nun auch, dafs festgestellt wird, innerhalb welcher Temperaturgrenzen eine Sporenbildung überhaupt stattfindet und welche Zeiträume für die einzelnen Temperaturgrade bis zum Eintritt der Sporenbildung benötigt werden. Bisher sind nur erst von wenigen Hefen solche ausführliche Angaben gemacht. Derartige Untersuchungen erfordern sehr viel Zeit und können ohne

gute Thermostaten gar nicht ausgeführt werden. Im allgemeinen wird man sagen können, dafs dem hierbei gemachten Aufwand an Fleifs und Arbeit kein entsprechender Nutzen gegenübersteht. Die Resultate werden sogleich andere werden, wenn die auf den Gipsblock gebrachten Zellen nicht in genau demselben physiologischen Zustand sich befinden. Vorläufig haben wir aber noch wenig Aufklärung darüber erhalten, woran man den für die Sporenbildung geeignetsten Zustand der Zelle erkennen kann. Wie leicht derselbe verändert wird, beweist die von Hansen beobachtete Thatsache, dafs bei längerem Auffrischen in Würze schon andere Zahlen erhalten werden.

Sacch. Pastorianus I. 24 Stunden aufgefrischt:

bei 31½° C. entwickelten sich keine Askosporen mehr,
bei 29½—30½° C. entstehen die ersten Anlagen nach 30 Stunden,
bei 29 ° C. „ „ „ „ „ 27 „
„ 27½° C. „ „ „ „ „ 24 „
„ 23½° C. „ „ „ „ „ 26 „
„ 15 ° C. „ „ „ „ „ 50 „

48 Stunden aufgefrischt:

bei 29° C. keine Askosporenentwicklung mehr,
„ 27° C. die ersten Anfänge nach 29 Stunden,
„ 23° C. „ „ „ „ 30 „
„ 15° C. „ „ „ „ 54 „

Um einen Einblick in die Abhängigkeit der Sporenbildung von der Temperatur zu geben, sei hier eine Zusammenstellung, wie sie Morris von den Resultaten der Hansenschen Untersuchungen gegeben hat, angeführt.

(S. Tabelle auf folg. Seite.)

Über die Hefen sei folgendes kurz mitgetheilt: Saccharom. cerevisiae I machte den Hauptbestandteil einer Oberhefe aus, welche Hansen aus einer Brauerei Edinburgs und später auch aus einer Brauerei Londons erhielt. Diese Art ist eine kräftige Form einer Oberhefe mit grofsen, runden oder ovalen, selten lang gestreckten Zellen. Sacch. Pastorianus I ist eine Hefe, welche oft in dem Staube der Luft in einer Brauerei von Kopenhagen sich vorfand. In Würze gezüchtet, erzeugt sie eine Untergärung und entwickelt Zellen, welche dem von Rees beschriebenen Sacch. Pastorianus entsprechen. Aufser den gestreckt wurstförmigen Zellen kommen aber auch grofse und kleine, ovale und runde Zellen vor. Diese Art giebt dem Bier einen intensiv bitteren Geschmack.

Sacch. Pastorianus II wurde ebenfalls in der Luft von Brauereien nachgewiesen; er gleicht bezüglich der Form seiner Zellen sehr dem Sacch. Pastorianus I, so zwar, dafs aus einem Gemisch beider die einander zugehörigen Zellen nicht mit Sicherheit bestimmt werden können. Sacch. Pastorianus II verursacht eine schwache Obergärung; eine Krankheit des Bieres wird durch ihn nicht bewirkt.

Tabelle, darstellend die Abhängigkeit der Sporenbildung von der Temperatur.

Temperatur °C.	S. cerevisiae I	S. Pastorianus I	S. Pastorianus II	S. Pastorianus III	S. ellipsoideus	S. ellipsoideus II
37,5	keine	—	—	—	—	—
36—37	29 Std.	—	—	—	—	—
35	25 „	—	—	—	—	keine
33,5	23 „	—	—	—	keine	31 Std.
31,5	—	keine	—	—	36 Std.	23
30	20	30 Std.	—	—	—	—
29	—	27	keine	keine	23	22
27,5	—	24	34 Std.	35 Std.	—	—
25	23	—	25	28	21	27
18	50	35	36	44	33	42
15	—	50	48	—	45	—
11—12	10 Tage	—	77	—	—	5,5 Tage
8,5	keine	5 Tage	—	9 Tage	—	9 „
7	„	7 „	7 Tage	—	11 Tage	—
3—4	„	14 „	17 „	keine	keine	keine
0—5	—	keine	keine	„	„	—

In der Gestalt der Zellen mit beiden vorhergehenden nahe übereinstimmend erzeugt Sacch. Pastorianus III in Bier leicht Hefetrübung. In Bierwürze ruft er obergärige Erscheinungen hervor.

Sacch. ellipsoideus II wurde aus einem kranken Bier isoliert; verursacht Biertrübung. In Würze entwickelte Zellen gleichen denen des Sacch. ellipsoideus I, welcher auf Weintrauben gefunden wurde.

Vorläufig hat man sich daran gewöhnt, die Untersuchungen immer nach dem Schema auszuführen, welches Hansen bei seinem ausgezeichneten Untersuchungen über die Sporenbildung in Anwendung gebracht hat. Man wird aber auch noch dazu übergehen müssen, dafs man für jede einzelne Hefenart besonders ausprobiert, welche Art des Auffrischens zur schnellsten Entwicklung der Sporen und zur gröfsten Sporenzahl führt. Für manche Hefen, z. B. die sporenbildenden Kahmhefen, welche Bodensätze überhaupt nicht oder nur ganz spärlich liefern, welche ferner Würze gar nicht oder nur wenig in Gärung bringen, sind Untersuchungen in dieser Richtung durchaus notwendig.

Für eine aus armenischem Mazun stammende Anomalus-Art hat Verfasser gefunden, dafs sie mit sterilem Wasser verrührt und in Form von Tröpfchen auf das Deckgläschen eines hohlen Objektträgers übertragen, binnen kurzer Zeit aufserordentlich zahlreich ihre hutförmigen Sporen gebildet hatte, während in der Impfstichkultur auf Würzegelatine diese Gebilde kaum zu finden waren, obwohl die Kultur schon einige Monate alt war. Hat doch Beijerinck vor kurzem angegeben, dafs der Saccharo-

myces apiculatus, von dem man bisher bei der Gipsblockkultur nie Sporen beobachtet hat, in der Natur solche ausbildet.

Auch bei einigen Hefen, die Verfasser immer als Torulaarten angesprochen hatte, brachte die Anwendung dieser Methode den Beweis, dafs hier Sporenbildung vorkommt.

Da wir von neuen Hefen nicht vorher wissen können, wann die Sporenbildung einsetzt, müssen wir frühzeitig anfangen, Proben vom Gipsblock abzukratzen und mikroskopisch zu untersuchen. Wir werden dabei zweckmäfsig folgendermafsen verfahren: Wir kratzen mit der ausgeglühten Platinnadel etwas von der obersten Schicht des Hefenbelags ab und übertragen denselben auf eine Zeichenfeder, die vorher in steriles Wasser getaucht war. Mit dieser machen wir uns auf dem Deckgläschen eines hohlen Objektträgers mehrere lange Striche und mikroskopieren. Später machen wir auf der oberen Seite des Deckgläschens unsere Vermerke über die Nummer der Probe und über die Zeit der Entnahme. Da in den Strichen die Hefezellen zu Tausenden sich vorfinden und sich in der Fläche ordnen, läfst sich das Bild bequem durchmustern; hat man mehrere Kulturen gleichzeitig zu untersuchen, dann kann man bequem 5—10 Striche auf einem Deckgläschen auftragen. Das Präparat läfst sich auch aufheben für spätere Durchmusterungen. Wir kennen Hefen, die bereits nach 10—15 Stunden, und solche, die erst nach 4—5 Tagen und noch später mit der Sporenbildung beginnen. Da für die praktische Hefenanalyse die Temperaturen von 25° C. und 19° C. vorwiegend benutzt werden, werden wir zunächst diese Temperaturen berücksichtigen.

Nicht jede ausgesäcte Zelle bildet auf dem Gipsblock Sporen; es kommen solche manchmal nur ganz spurenweis zum Vorschein; die Zahl der Sporen innerhalb der einzelnen Zellen wechselt ebenfalls. Man hat auf diese Dinge zu achten, da sie leicht Unterscheidungsmerkmale für einzelne Hefen abgeben können.

Zellen einer sporenbildenden Art, welche auf dem Gipsblock keine Sporen entwickelt haben, können in Würze wieder eine Nachkommenschaft erzeugen, die wieder sporenbildende Zellen enthält. Andererseits bilden die Nachkommen einer Spore nur zum Teil wieder Sporen auf dem Gipsblock. Die Nachkommen ein und derselben Mutterzelle können bei einzelnen Hefearten (S. Ludwigii Hansen, Schizosaccharomyces octosporus Beijerinck) so verschieden sein, dafs die einen Generationen keine Sporenbildung, die andern reichlich zeigen.

Haben wir bei unseren Gipsblockkulturen reichliches Sporenmaterial erhalten, dann gilt es auch festzustellen, in welcher Weise das Auskeimen der Sporen erfolgt und welche Unterschiede zwischen ihnen und den gewöhnlichen vegetativen Zellen bestehen. Bei nicht keimenden Sporen wird man wiederholte Versuche anstellen müssen; insbesondere wird man den Einfluss eines längeren Austrocknens zu untersuchen haben.

Vielleicht macht auch die Zusammensetzung der Flüssigkeit hierbei etwas aus. Man probiere auch, ob in bloſsem Wasser die Auskeimung eintritt.

Die Sporen sind ihrer Bestimmung nach Dauerorgane, durch die sich die Art unter ungünstigen äuſseren Bedingungen zu erhalten sucht, bis bessere Verhältnisse eintreten; im Vergleich zu den vegetativen Zellen sind sie widerstandsfähiger; ihre Haut ist anscheinend dicker, ihr Inhalt plasmareicher und wasserärmer. Über die Keimung der Hefesporen haben wir ebenfalls durch Hansen wichtige Aufschlüsse erhalten. Neuerdings beschäftigt man sich auch mit den Beziehungen derselben zu den Zellkernen. Zalewski führt schon an, daſs die bei der Sporenbildung sich abspielenden Vorgänge verschieden sein können. In manchen Fällen tritt in der Zelle, ohne daſs das Protoplasma vorher besonders körnerreich war, eine einzige groſse centrale Vakuole auf, um welche herum sich dasselbe schlieſslich in einzelne, der Sporenzahl entsprechende Partien zerlegt; in anderen Fällen wird das Plasma stark körnig, die Bildung der Vakuole unterbleibt ganz oder es treten deren mehrere kleine auf, und das Plasma zerfällt schlieſslich in die sporengebenden Partien. Beide Vorgänge können auch bei ein und derselben Hefe beobachtet werden.

Beijerinck hat für den Schizosaccharomyces octosporus festgestellt, daſs dem Auftreten der 8 Sporen eine wiederholte Teilung des Zellkerns voraufgeht. Die Arbeiten von Möller sprechen ebenfalls für eine Beteiligung des Zellkerns bei der Sporenbildung. Janssen will sogar Kernteilungsfiguren gesehen haben.

Die Photographie einer Hefenkolonie aus einer Adhäsionskultur auf Tafel I Abb. 2 zeigt uns verschiedene Entwicklungszustände der Sporenbildung.

Weiterhin untersuchen wir unsere Hefen auf die Fähigkeit der **Hautbildung.** Obwohl alle Organismen mehr oder weniger leicht zur Bildung solcher oberflächlich schwimmenden Häute neigen, sind doch in dem zeitlichen Erscheinen, in der Wachstumsweise, in dem Aussehen derselben bemerkenswerte Unterschiede bei den verschiedenen Arten vorhanden.

Eingeleitet wird diese Bildung am besten in Gefäſsen, in denen die Flüssigkeit der Luft eine groſse Oberfläche darbietet. Wir bedienen uns der Erlenmeyer'schen Kölbchen, die mit Wattepfropfen und Papierhaube zugedeckt und im Dampftopf mit der Flüssigkeit sterilisiert worden sind. Über freier Flamme erhitzte Würzen zeigen an der Oberfläche später häutige Ausscheidungen, welche durch Festhalten einzelner Zellen zu frühzeitiger Kahmhautbildung Veranlassung geben können (Will). Die Temperatur ist natürlich von groſser Bedeutung für die Schnelligkeit der Bildung und des Wachstums der Häute. Einzelne Arten bilden ganz

dünne, mattgraue, andere dicke, wulstige, bröcklige bis klebrige, noch andere mehlartig trockene oder glänzende, knorpelig feste Häute.

Neuerdings hat man die von der Flüssigkeit benetzten Häute, wie solche bei den Kulturhefen z. B. angetroffen werden, wegen des rahmartigen Aussehens auch „Rahmhäute" genannt. Unter einer Kahmhaut stellt man sich mehr trockene, auch in gekröseartige Falten gelegte Häute vor, die nicht ohne weiteres von der Flüssigkeit benetzt werden. In vielen Fällen findet nur an der Glaswandung eine sogenannte Heferingbildung statt. Bei manchen Arten ist mit dem Auftreten solcher Gebilde auch eine Veränderung der Zellform verknüpft, und werden wir daher nicht unterlassen, Proben davon mikroskopisch zu untersuchen.

Besonders aufmerksame Beachtung hat Will (Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen 1895, No. 1—7) dem Verhalten der Zellen in den Kahmhäuten und den Heferingen geschenkt. Er hat gezeigt, wie z. B. bei den untergärigen Hefen sich daselbst sogenannte „Dauerzellen" bilden, die durch eine feste Membran, reichen Gehalt an Öltropfen und Glykogen, spärliche Vakuolenbildung und vor allem durch eine lange Lebensdauer ausgezeichnet sind. Bei ihrem Auskeimen entwickeln sich oft typisch gegliederte Mycelien, wobei einzelne Zellen eine sehr starke Streckung (oft bis 150 μ) und im Innern Querwände aufweisen. Da diese mycelialen Gebilde erst in älteren Kahmhäuten auftreten, spricht Will von ihnen als den Kahmhautzellen 2. Generation, während die im Anfang der Bildung auftretenden, mehr oder weniger gleichmäfsig gestalteten Zellen als Kahmhautzellen 1. Generation bezeichnet werden. Die Kahmhautzellen üben durch eine energische Sauerstoffübertragung eine viel energischere Veränderung in der angegorenen Flüssigkeit aus, als die Bodensatzhefen.

Die Hautbildung beginnt oft gleichmäfsig an allen Stellen der Oberfläche, oft aber sieht man auch, dafs die Haut von der Glaswandung aus sich über die Flüssigkeit ausbreitet. Das Aussehen der Häute wechselt sehr mit dem Alter; dicke, faltige Häute bröckeln später auseinander und sinken zu Boden, während an ihre Stelle später noch eine ganz dünne, nackte Haut tritt.

Dafs ältere Häute oft auch Sporen ausbilden, ist schon erwähnt. Bei wiederholten Kulturversuchen wird man sowohl in dem zeitlichen Auftreten als auch in dem Aussehen der Häute manche Unterschiede bemerken; andererseits findet man wieder bei zeitlich um viele Jahre auseinanderliegenden Versuchen eine frappante Übereinstimmung mit früheren Wahrnehmungen.

Besonders wichtig für die Unterscheidung der Hefen sind

§ 29. Gärversuche.

Einleitende Bemerkungen über die Zuckergruppe. Die Zucker sind Kohlenhydrate, enthalten also Kohlenstoff neben Wasser-

stoff und Sauerstoff, welch letztere in demselben Verhältnis wie beim Wasser, also 2 : 1 darin vorkommen.

Nach der Zahl der Kohlenstoffatome im Zuckermolekül unterscheidet man Triosen, Tetrosen, Pentosen, Hexosen, Heptosen, Oktosen, Nonosen u.s.w.

Alle Zucker sind entweder Aldosen (Oxyaldehyde) oder Ketosen (Oxyketone). Es giebt einfache Zucker (Monosaccharide) und zusammengesetzte (Polysaccharide). Letztere sind in der Natur besonders verbreitet. Rohrzucker (aus d-Glukose und d-Fruktose), Milchzucker (aus d-Glukose und Galaktose), Maltose und Isomaltose (aus 2 Molekülen d-Glukose), Stärke, Cellulose, Inulin (aus 2 Fruktose), Glykogen, Dextrin, Gummiarabicum, Holzgummi sind Polysaccharide oder Gemenge von solchen. Die löslichen unter ihnen lassen sich durch Alkohol ausfällen oder, (mit Ausnahme von Gummiarabicum, löslicher Stärke und den Dextrinen) mit Ammonium-, Natrium- oder Magnesiumsulfat aussalzen. Sie reduzieren Fehlingsche Lösung erst nach dem Kochen mit verdünnten Säuren oder nach der Spaltung durch Enzyme.

Alle Polysaccharide werden durch kürzeres oder längeres Erhitzen mit verdünnten Säuren, z. B. 3%iger Schwefelsäure, spätestens innerhalb 24 Stunden zu den ihnen zu Grunde liegenden einfachen Zuckern hydrolysiert. Wird die Schwefelsäure mit kohlensaurem Baryt neutralisiert, dann lassen sich die betreffenden Zucker durch Eindampfen im Vakuum und wiederholte Extraktion mit 95—98%igen Alkohol gewinnen. Alle Zucker sind sehr leicht löslich in Wasser, ziemlich in Methylalkohol, gar nicht in Chloroform und den Kohlenwasserstoffen. Sie bilden durchweg gern übersättigte Lösungen, „Sirupe", und zeigen in solchem Zustand weit gröfsere Löslichkeit in Äthylalkohol als in krystallisiertem Zustand, aber ein einziger Krystallsplitter von dem in Frage kommenden Zucker genügt, die Krystallisation in solcher Lösung einzuleiten. Wesentlich ist also für jeden, der in der Zuckergruppe arbeitet, ein reichhaltiges Lager von krystallisierten Zuckern zu haben, um eventuell aus den Sirupen Krystalle abscheiden zu können.

Eine besondere Eigentümlichkeit der Zucker ist ihr Lösungsvermögen für Salze; dasselbe ist so grofs, dafs es oft kaum möglich ist, Zucker durch Lösen in Alkohol aschefrei zu erhalten. Das Aufkochen einer solchen Lösung beschleunigt jedoch das Ausfallen der aschehaltigen Materie.

Das wichtigste Charakteristikum für die Zuckerarten sind die reduzierenden Eigenschaften. Fehlingsche Lösung wird durch Glycerose (Gemisch von 2 Triosen) rasch und schon in der Kälte, durch Erythrose (eine Tetrose) langsam, durch Pentosen und Hexosen nur beim Kochen reduziert. Bei Gegenwart von Eiweifsstoffen, die auch reduzierend wirken, sind dieselben vorher erst durch Bleiacetat auszufällen. Charakteristisch ist ferner die Verbindung von Zuckern mit Phenylhydrazin zu Hydrazonen (mit 1 Molek. Phenylhydrazin) und Osazonen (mit 2 Molekülen).

Man erhitzt in einem Reagenzglas einige ccm der zuckerhaltigen Flüssigkeit mit 5—6 Tropfen Phenylhydrazin und einigen Tropfen Essigsäure in leichtem Überschufs im Wasserbad. Nach längstens 1 Stunde hat sich dann das Osazon meist als flockige Fällung ausgeschieden oder aber auch ölig, wenn zu lange erhitzt und zu viel Phenylhydrazin verwendet wurde. Der Glukosazon fällt schon während des Erhitzens flockig, krystallinisch aus, andere, wie das Galakoseosazon erst beim Erkalten, oder wie das Osazon des Milchzuckers, der Maltose und Turanose erst bei gröfserer Konzentration.

Viele der einfachen Zucker lassen sich mit Bleiessig und Ammoniak oder fixem Alkali in Form schwer löslicher Bleiverbindungen aus ihren Lösungen fällen, doch sind diese Verbindungen wenig zur Krystallisation geneigt.

Weit geeigneter zur Reindarstellung der Zucker als diese Saccharate sind aber die Hydrazone. Dieselben entstehen aus dem Hydrazin und dem Zucker in der Kälte unter Austritt eines Moleküls Wasser. Es sind schön krystallisierte, meist farblose Verbindungen, die durch starke Säuren wieder in ihre Komponenten gespalten werden. Besonders eignet sich nach Ruff das Benzylphenylhydrazin zur Darstellung der Hydrazone.

Man ermittelt zunächst den Zuckergehalt der Lösung und giebt die theoretisch berechnete Menge jener Verbindung hinzu, digeriert 1 Stunde bei 80° und setzt darnach, sofern die Lösung nicht zu verdünnt ist, soviel Wasser zu, bis die Flüssigkeit sich eben trübt. Nach einigen Stunden oder Tagen wird dieselbe krystallisieren. Nach nochmaligem Umkrystallisieren kann durch Analyse, Bestimmung des Schmelzpunktes und Drehvermögens die Art des Zuckers leicht erkannt werden. Die Spaltung der Hydrazone geschieht am besten mit Formaldehyd, wobei der Zucker wieder frei wird und Formaldehydhydrazin als schweres Öl sich abscheidet, das von dem Zucker getrennt werden kann durch mehrmaliges Ausäthern.

Die Zucker werden eingedickt und eventuell mit Krystallsplittern geimpft. Für die Trennung von Zuckergemischen dürften häufig Gärungen mit bestimmten Hefen zweckmäfsig sein.

Das Verhalten der Hefe gegenüber verschiedenen Zuckerarten.

Nachdem Hansen im Jahre 1888 das Verhalten von ungefähr 40 Hefearten gegenüber Saccharose, Maltose, Laktose und Dextrose genauer untersucht hatte, veröffentlichten 1894 Fischer und Thierfelder eine Studie, in der 12 verschiedene Hefen aufser auf die 4 von Hansen angewandten Zuckerarten noch wirken gelassen wurden auf d-Mannose, d-Fruktose, d-Galaktose, d-Talose, l-Mannose, l-Glukose, Sorbose, l-Arabinose, Rhamnose, α-Glukoheptose, α-Glukooktose.

Während Hansen sich für die Gärversuche noch grofser Pasteur'scher Kolben bedient und ca. $^3/_4$ l Zuckerlösung anwendet, sehen sich Fischer und Thierfelder wegen der Kostbarkeit der selteneren Zuckerarten genötigt, sparsamer zu arbeiten und bedienen sich eines kleinen, 1 ccm fassenden Kölbchens, das sie zu $^2/_3$ mit einem Gemisch gleicher Volumina 20 %iger wässeriger Zuckerlösung und Hefedekokt füllten.

Das Gärkölbchen trug ein geschliffenes Ableitungsrohr, dessen U-förmiger Teil Barytwasser enthielt. In den Proben, in denen keine Gärung eintrat, bildete sich nur ein ganz schwaches Häutchen von kohlensaurem Baryt; da, wo die Zucker vergoren wurden (die Apparate blieben 3—10 Tage im Brütschrank bei 24—28° C stehen), entstand eine starke Trübung.

Abgesehen von zahlreichen, zumeist im Institut für Gärungsgewerbe ausgeführten Gärversuchen, die das Verhalten der Hefen gegenüber den Bestandteilen der Bierwürze feststellen sollten — Bestimmung der Endvergärungsgrade nach Delbrück —, sind schliefslich noch zu erwähnen die Versuchsreihen, die Arminius Bau bezüglich der Trehalose und Melibiose und Schukow bezüglich der Raffinose veröffentlicht haben.

Gärversuche im hohlen Objektträger.

Verf. hat folgende einfache Versuchsanstellung gewählt: Die Zuckerarten werden sämtlich fein pulverisiert, so dafs man ohne Schwierigkeit aus dem betreffenden Gläschen annähernd gleich grofse Prisen mit dem Platindraht — vorn etwas breit geklopft — entnehmen kann. Als Gärgefäfs dient ein hohler Objektträger, dessen Höhlung mit einem Deckgläschen bedeckt wird, nachdem vorher 1 oder 2 Tropfen sterilen Wassers oder Hefewassers, in dem die betreffende Hefe fein verteilt ist, zugegeben und mit einer kleinen Prise von der betreffenden Zuckerart vermischt worden ist.

Wichtig ist es nun, dafs man bei der Abmessung der Hefeflüssigkeit geschickt genug ist und ein zu viel wie ein zu wenig vermeidet. Es darf, wenn das Deckgläschen über die Flüssigkeit geschoben wird, keine Luftblase darunter verbleiben, ebenso darf die Flüssigkeit nicht zu stark unter den Rändern des Deckgläschens hervorquellen, da sonst mit sterilem Filterpapier der Überschufs abgesaugt werden mufs. Würde dieses unterlassen, dann würde der Vaselinring, der um das Deckgläschen gezogen werden mufs, nicht dicht halten, was von Wichtigkeit ist.

Das so hergestellte Präparat bringt man zweckmäfsig in einen Raum von ca. 25° C. Spätestens am nächsten Morgen zeigt sich, ob Gärung eingetreten ist oder nicht. In letzterem Falle erscheint das Präparat durchaus unverändert, nur dafs die Hefe als gleichmäfsiger Schleier die

untere Wand der Höhlung bedeckt. Um sicher zu gehen, empfiehlt sich hier noch das Anwärmen des Präparates über der Sparflamme. Ist auch nur eine schwache Gärung vorhanden, dann treten zahlreiche Kohlensäurebläschen auf.

Wird die betreffende Zuckerart von der Hefe aber lebhaft vergoren, dann bietet das Präparat ein anderes Bild dar. Die Höhlung wird fast ganz von einer grofsen Luftblase ausgefüllt, unterhalb deren die Hefe feuchtbreiig daliegt. Das Vaselin hat zum Teil bei der Hebung des Deckgläschens nachgegeben und sich unter dasselbe gezogen. Zwischen Luftblase und Vaselinrand breitet sich die vergorene Flüssigkeit aus. Um den Nachweis zu erbringen, dafs die Luftblase in der Hauptsache aus Kohlensäure besteht, braucht man blofs seitlich ein paar Tropfen Kali- oder Natronlauge zufliefsen lassen. Sofort schrumpft die Blase bis auf einen kleinen Rest zusammen.

Die Gärversuche werden zweckmäfsig so durchgeführt, dafs man so

Abb. 103a. Gärversuch im hohlen Objektträger.

viel Objektträger vorbereitet, als Zuckerarten zur Verfügung stehen, und dafs man auf sämtliche Objektträger dieselbe Hefe verteilt. Das Verfahren, bei dem man überall dieselbe Zuckerart auf die Objektträger bringt und auf jede eine andere Hefe, ist viel unzweckmäfsiger und nur ausnahmsweise anzuwenden.

Bei dem ersteren Verfahren: Dieselbe Hefe auf Vergärbarkeit der zur Verfügung stehenden Zuckerarten zu prüfen — haben wir eine gegenseitige Kontrolle. Gesetzt, es stellte sich in einem der Objektträger eine kleine Luftblase ein, von der es zweifelhaft sein könnte, ob sie wirklich durch Gärung entstanden oder vielleicht nur das Produkt einer intensiven intramolekularen Atmung: dann brauchen wir blofs nachzusehen, ob sich überall in den schwer oder nicht vergärbaren Zuckerlösungen eine ebensolche Blase vorfindet. Ist dieses nicht der Fall — warum sollte dieselbe Hefe in dem einen hohlen Objektträger stärker atmen als wie in dem anderen? Sollte beim Präparieren eine Luftblase unter dem Deckgläschen verblieben sein und allen Versuchen, sie zu entfernen, sich widersetzt haben, so macht man auf dem Objektträger selbst eine Zeichnung, welche der Gröfse der Luftblase entspricht.

Nimmt man gewöhnliches kalkreiches Leitungswasser zur Hefeverdünnung, dann kann es wohl vorkommen, dafs man von der beim Sterilisieren des Wassers sich ausscheidenden Haut aus kohlensaurem Kalk eine gröfsere Anzahl Kryställchen mit auf den Objektträger giebt und dafs bei eventueller Säureproduktion durch den Organismus die Kohlensäure aus dem Kalk frei gemacht wird.

Welche Vorsichtsmafsregeln sind bezüglich der Sterilität der Lösungen zu treffen? Verf. hat geglaubt, darauf verzichten zu können, auch das Zuckerpulver besonders zu sterilisieren, und zwar aus dem Grunde, weil bei der ganzen Methode die Reaktion innerhalb 15—20 Stunden eintritt. Durch Vermeidung des Aufkochens des Zuckers in der Flüssigkeit ist auch ein Fehler eliminiert, der bei der leichten Zersetzbarkeit mancher Zuckerarten sonst in Frage käme.

Es ist im höchsten Grade unwahrscheinlich, dafs auf den künstlich hergestellten Zuckern soviel lebende Keime sitzen, dafs diese innerhalb 15—20 Stunden eine Massenwirkung erzielen sollten, zumal bei Luftabschlufs und in Gegenwart zahlreicher lebender Hefezellen. Indem man also auf die besondere Sterilisation des Zuckers verzichtet, erleichtert man sich ungemein das Arbeiten, und es ist bei einiger Übung eine Stunde ausreichend, um 20 Objektträger fertig herzurichten.

Die Sterilisation der Objektträger und Deckgläschen kann in sehr einfacher Weise vorgenommen werden, indem man sie auf dem Arbeitstisch nebeneinanderlegt und mit einer Gasflamme über die Flächen streicht.

Die Sterilisation der Vaseline geschieht ebenfalls in der Flamme, man sorgt dafür, dafs nicht zu viel Masse in den Haaren des Pinsels sich befindet. Sobald sie geschmolzen ist, spritzt man den Überschufs ab und betupft zunächst die 4 Ecken des Deckgläschens; nachher erst zieht man die Seiten des Quadrats mit Vaseline aus.

Das Auftragen des Zuckerpulvers geschieht vielleicht mit einem Platindraht. Man giebt erst die Hefenlösung in die Höhlung, und dann schüttet man die Prise Zucker auf. Würde man das umgekehrt machen, so würde das Pulver durch die niederfallende Flüssigkeit leicht verstäubt und auf die benachbarten Objektträger geschleudert werden können.

Wie stark ist die Konzentration der Zuckerlösung? Das ist schwer zu sagen und umständlich zu bestimmen. Man wird für gewöhnlich Konzentrationen von 10—20 Proz. vor sich haben. Ob etwas höher oder niedriger, ist übrigens ziemlich gleichgültig. Nur zu gering darf die Lösung nicht werden, weil die Kohlensäureentwicklung dann zu schwach werden kann, um äufserlich kenntlich zu sein. Auch die Hefenmenge darf nicht zu gering bemessen werden.

In welcher Form beschafft man sich die Anstellhefen?

Es wurden Impfstrichkulturen auf Würzegelatine von nicht zu hohem Alter, höchstens 3—4 Wochen, benutzt. Hiervon wurde mit dem sterilen Platindraht ein erbsengroſses Stück Hefe entnommen und übergeführt in ca. 10 ccm steriles Leitungs- oder Hefenwasser. Ob man das eine oder andere wählt, macht keinen Unterschied. Nachdem das erbsengroſse Stück gleichmäſsig verteilt ist, entnimmt man mittels einer kleinen sterilen Pipette ein hinreichendes Quantum, das zum Beschicken der betreffenden Anzahl Objektträger ausreicht.

Handelt es sich darum, eine neu eingetroffene Zuckerart zu prüfen, so verzichtet man darauf, von jeder Hefe sich erst eine Verdünnung zu machen. Man bringt dann einfach steriles Leitungs- oder Hefenwasser in die Höhlung der Objektträger und verrührt darin eine Spur Hefe, die von der Gelatinekultur abgeimpft ist. Bei diesem Verfahren sorge man dafür, daſs die Platindrahtöse nach dem Ausglühen ausgewaschen wird. Wer Hefe im Platindraht verkohlt und verascht, bekommt immer einen Rückstand, der stark alkalisch reagiert. Diese Reaktion ist nicht günstig für die Gärung; auſserdem, da es sich hauptsächlich um Pottasche handelt, führt man in die Gärflüssigkeit wieder gebundene Kohlensäure ein.

Wie für Hefen, ist auch für die Schimmelpilzgruppe die Methode geeignet. Die Schwierigkeit der Anwendung liegt hauptsächlich darin, daſs man die Schimmelkulturen nicht in gleicher Weise bequem abkratzen kann wie die Hefe.

Mit der Erkenntnis des Verhaltens der Gärorganismen gegenüber den verschiedenen Zuckerarten ist wissenschaftlich ungeheuer viel gewonnen; wenigstens wird eine Einteilung und Unterscheidung derselben nach chemisch-physiologischen Gesichtspunkten ermöglicht. Daſs die Glieder derselben Gruppe auch verwandtschaftlich näher stehen, ist damit nicht gesagt; finden sich doch erfahrungsgemäſs oft die morphologisch abweichendsten Species in derselben Gruppe vor.

Ein besonderes Interesse wird aber der Vergleich der in derselben Gärflüssigkeit gleichzeitig vorkommenden Organismen darbieten, z. B. der Formen, die im Lagerbier nebeneinander wuchern können, oder der Organismen, die im Danziger Jopenbier, im Meth, in Brennereimaischen, im armenischen Mazum u. s. w. nebeneinander auftreten.

Nicht zuletzt wird die Methode dadurch nutzbringend wirken, daſs sie eine schnellere Identifizierung zweier oder mehrerer Gärungsorganismen ermöglicht.

Statt die Organismen selbst einzuführen, wird es auch unter Umständen möglich sein, die Gärwirkung irgend eines Preſssaftes in der oben angeführten Weise zu studieren.

Mit Hilfe der geschilderten Methode sind bisher 3000 Gärversuche ausgeführt worden (vom Verf. und seinen Mitarbeitern Dennhardt,

Kownatzki und Rommel.) Die tabellarische Zusammenstellung der Resultale findet man in der Wochenschrift für Brauerei 1900. Nr. 49—51.

Hier mögen nur die Resultate, die mit einigen der bekannteren Gärungsorganismen erhalten wurden, in der nachstehenden Tabelle mitgeteilt werden; eine weitere Besprechung wird sich in dem letzten Teil des Buches anschliefsen.

(S. Tabelle S. 196.)

Arabinose, Xylose, Rhamnose, α-Glukoheptose, l-Sorbose und Tagatose sind bis auf einen zweifelhaften Fall bei S. octosporus gegenüber der Xylose und des S. Ludwigii gegenüber Tagatose intakt geblieben.

Das Inulin ist von einer gröfseren Anzahl gegen Maltose unwirksamer Arten wie S. Marxianus, exiguus, der Hefe aus Kissley-tschi (461), leicht in Gärung gebracht worden. Die Logoshefe, sowie S. Pombe und mellacei vergären aber gleichzeitig Inulin und Maltose. Die Octosporushefe ist gegen Inulin unwirksam.

Das Dextrin, ein Säuredextrin (von der Firma Kahlbaum, Berlin, bezogen), war namentlich von den verschiedenen Schimmelpilzarten — Monilia candida und variabilis, den Amylomyces-Arten, der Sachsia suaveolens, sowie von der Hefe Logos, und den drei Spalthefen (S. Pombe, octosporus und mellacei) kräftig angegriffen worden.

Die Glukose ist mit Ausnahme der beiden ersten von sämtlichen aufgeführten Arten vergoren worden.

Die d-Mannose wird von einzelnen Arten, welche Glukose sogar kräftig angreifen, gar nicht vergoren, so z. B. von der Monilia variabilis, S. Pombe, S. exiguus, S. Bailii, und einer Apiculatushefe.

Die d-Galaktose wird mit wenigen Ausnahmen ebenso angegriffen wie die d-Mannose, es kommen jedoch Fälle vor, wo diese vergoren wird, jene nicht, und umgekehrt.

Die Fruktose wird überall vergoren, wo die Glukose vergärt, bei dem S. farinosus ist jedoch der Angriff auf erstere entschieden lebhafter.

Die Trehalose, von der Mehrzahl der Arten intakt gelassen, wurde stark angegriffen von Monilia candida und variabilis, dem Mucor Rouxii und Amylomyces γ.

Der Rohrzucker giebt nirgends zweifelhafte Resultate. Bemerkenswert ist es, dafs sich dem S. octosporus noch einige Arten beigesellt haben, welche gleich ihm die Maltose vergären, aber den Rohrzucker intakt lassen: Mucor Rouxii und Amylomyces γ, ferner die beiden aus konzentrierten Zuckerlösungen isolierten Hefen 570 (aus Zuckerrohrmelasse) und Hefe 370 (aus sizilianischem eingedicktem Traubenmost).

Tabelle, darstellend das Verhalten von verschiedenen Gärungspilzen gegen verschiedene Zuckerarten.

Erklärung der Zeichen: — bedeutet, dafs keine Gärung, ? dafs dieselbe in zweifelhaften Spuren, 1 dafs dieselbe schwach, 2 dafs dieselbe mäfsig stark, 3 dafs dieselbe stark auftrat.

Nummer in der Sammlung	Bezeichnung der Reinkultur	Inulin	Dextrin	Glukose	d-Mannose	d-Galaktose	Fruktose	Trehalose	Rohrzucker	Maltose	Milchzucker	Melibiose	Raffinose	α-Methylglukosid	β-Methylglukosid	Arabinose, Xylose, Rhamnose, l-Sorbose, α-Glukoheptose, Tagatose
497	Orangehefe aus Mazun . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
75	S. hyalosporus	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
250	Fruchtäther-Hefe aus Gallengärung	—	—	1	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
272	S. membranaefaciens	—	—	1	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
125	S. farinosus . . } aus Danziger	—	—	1	—	—	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—
76	S. Bailii . . . . } Jopenbier	—	—	2	—	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—
99	S. apiculatus	—	—	1	1	1	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—
606	„ „ aus Leipziger Meth	—	—	3	—	—	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—
126	S. anomalus belgicus	—	—	1	1	1	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
621	Torula pulcherrima	—	—	3	2	1	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—
272	S. Ludwigii	—	—	3	2	1	3	—	3	—	—	—	1	—	—	— ? [1]
354	S. Delbrücki	—	—	2	2	1	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—
409	S. Marxianus	3	—	2	2	1	3	—	2	—	—	—	1	—	—	—
431	S. exiguus	?	1	3	—	1	3	—	2	—	—	—	1	—	—	—
461	Hefe aus Kissleytschi	3	—	3	3	1	3	1	3	—	—	—	2	—	—	—
370	Hefe aus konz. Traubenmost .	—	—	3	3	1	3	—	—	2	—	—	2	—	—	—
570	Hefe aus Zuckerrohrmelasse .	—	?	3	3	—	3	—	—	3	—	—	—	—	—	—
271	Monilia candida	—	1	3	2	2	3	3	3	3	—	—	—	—	—	—
483	Monilia variabilis	—	3	3	—	2	3	3	3	3	?	—	2	2	1	—
186	Sachsia suaveolens	—	3	3	1	2	3	—	3	3	2	—	1	—	2	—
508	Mucor Rouxii	—	3	3	3	3	3	3	—	3	—	—	—	1	—	—
643/581	Amylomyces β	3	2	3	3	3	2	—	3	2	—	2	2	—	—	—
582	Amylomyces γ	—	3	3	3	3	2	3	—	2	—	—	—	—	—	—
199	S. cartilaginosus a. Kefirkörnern	—	—	3	3	1	3	?	3	3	—	—	1	—	—	—
394	Milchzuckerhefe	—	—	2	1	1	2	—	2	—	1	—	2	—	—	—
571	Hefe aus sibirischem Kwafs .	—	1	2	2	1	2	—	2	2	—	—	1	1	—	—
429	Logos-Hefe (van Laer) . . .	1	3	3	3	2	3	—	3	3	—	3	1	1	—	—
173	Schizosaccharomyces Pombe .	2	2	3	—	—	3	—	3	3	—	—	2	2	—	—
577	Schizosaccharomyces mellacei	2	2	2	2	—	2	—	2	2	—	—	1	1	—	—
408	Schizosaccharomyces octosporus . .	—	3	2	2	1	3	—	—	2	—	—	1	1	—	— ? [2]

[1]) Gegen das Gemisch von l-Sorbose und Tagatose zweifelhafte Gärung.

[2]) S. octosporus schien Xylose etwas anzugreifen.

Der Milchzucker ist vergoren worden von der Weigmannschen Hefe (394), und der Sachsia suaveolens, zweifelhaft von der Monilia variabilis.

Die Melibiose wird schwach vergoren von dem Amylomyces β, kräftig dagegen von der Hefe Logos. Von den drei Spalthefen bleibt sie unvergoren.

Die Raffinose wird in einigen Fällen vergoren, wo der Rohrzucker intakt bleibt (Hefe 370, S. octosporus) —, andererseits wird sie intakt gelassen von Arten, welche Rohrzucker und d-Fruktose vergären: Monilia candida. Auffällig ist ferner, dafs Hefe Logos die Raffinose schwach, die Melibiose und den Rohrzucker aber stark vergärt.

α-Methylglukosid wird ziemlich häufig angegriffen.

β-Methylglukosid dagegen sehr selten. Sachsia suaveolens vergärt nur die β-, nicht die α-Verbindung, Monilia variabilis vergärt beide gleichzeitig.

Nachstehend mögen noch einige Gärversuche mit z. T. sehr seltenen Zuckerarten folgen:

Gärversuche von E. Fischer u. Thierfelder mit den Hefearten:	d-Mannose	d-Fruktose	d-Galaktose	d-Talose	l-Mannose	l-Gulose	Sorbose	l-Arabinose	Rhamnose	a-Glukoheptose	a-Gluko-oktose	Saccharose	Maltose	Milchzucker
S. Pastorianus I (Hansen)	†††	†††	†††	—	—	—	—	—	—	—	—	†††	†††	—
S. Pastorianus II „	†††	†††	††	—	—	—	—	—	—	—	—	†††	†††	—
S. Pastorianus III „	†††	†††	†††	—	—	—	—	—	—	—	—	†††	†††	—
S. cerevisiae I „	†††	†††	†††	—	—	—	—	—	—	—	—	†††	†††	—
S. ellipsoideus I „	†††	†††	††	—	—	—	—	—	—	—	—	†††	†††	—
S. ellipsoideus II „	†††	†††	†	—	—	—	—	—	—	—	—	†††	†††	—
S. Marxianus „	†††	†††	†††	—	—	—	—	—	—	—	—	†††	†††[1]	—
S. membranaefaciens „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Hefe Frohberg, Brauereihefe untergärig	†††	†††	†††	—	—	—	—	—	—	—	—	†††	†††	—
Rasse II, Brennereihefe .	†††	†††	†	—	—	—	—	—	—	—	—	†††	†††	—
S. productivus (Beijerinck)	†††	†††	—	—	—	—	—	—	—	—	—	†	†††	—
Milchzuckerhefe	††	†††	†	—	—	—	—	—	—	—	—	†††	—	†††

††† bedeutet vollständige Vergärung; nach elf Tagen wurde die Fehlingsche Lösung nicht mehr reduziert.

†† bedeutet fast vollständige Vergärung; nach elf Tagen wurde die Fehlingsche Lösung nur wenig reduziert.

† bedeutet: Gärung zweifellos vorhanden.

— bedeutet: Gärung nicht vorhanden.

Die Zucker waren in Hefewasser gelöst zur Anwendung gekommen.

[1]) Nach späteren Untersuchungen ist Maltose von Marxianus nicht vergärbar.

§ 30. Hefenenzyme.

Bei den Hefen, welche nur Hexosen vergären, d. h. in Alkohol und Kohlensäure spalten, ist das von Buchner entdeckte Enzym, die Zymase wirksam (vgl. S. 224). Warum die Zymase der einen Hefe Mannose und Galaktose nicht vergärt, während dies eine andere Hefe fertig bringt, ist noch unklar. Die Polysaccharide müssen dagegen erst für den Angriff durch die Zymase durch andere Enzyme gespalten werden, wobei gewöhnlich eine Hydrolyse vorausgeht.

Inulin wird durch Inulase in Fruktose gespalten.

Das Dextrin umwandelnde Enzym wird als Dextrinase,

das Trehalose spaltende als Trehalase bezeichnet; durch diese wird das Trehalose molekül in zwei Moleküle Glukose gespalten;

Rohrzucker wird durch das Invertin in Glukose und Fruktose gespalten;

Maltose durch die Glukase in 2 Glukose;

Milchzucker durch die Laktase in d-Galaktose und Glukose;

Melibiose durch die Melibiase in Glukose und d-Galaktose;

die Raffinose oder Melitriose wird hydrolisiert und gespalten in Fruktose und Melibiose; das Enzym würde als Raffinase oder Melitriase zu bezeichnen sein.

Die Zahl der Enzyme in der Hefenzelle ist mit den oben genannten noch nicht erschöpft. Es giebt auch Enzyme, welche auf die Eiweifskörper wirken.

Bei der Selbstgärung der Hefe entstehen eine Menge Abbauprodukte des Eiweifses. Kutscher fand neben den Sarkinbasen, dem Leucin, und Tyrosin noch Ammoniak, Histidin, Arginin, Lysin, Asparaginsäure und eine Substanz von der Formel $C_8 H_6 N_4 O_4$.

Zu den hier wirksamen Enzymen ist das schon früher bei der Besprechung der Gelatineverflüssigung durch Hefen genannte Trypsin zu rechnen. Dieses „proteolytische Enzym" der Hefe steht dem tierischen Trypsin aufserordentlich nahe, so dafs man sogar in Aussicht genommen hat, bei Erkrankungen der Bauchspeicheldrüse (Pankreas), welche eine Störung in der Absonderung des tryptischen Enzyms bedingen, dieses in Form von Hefe oder Hefepreſssaft den Kranken zuzuführen.

Das Trypsin wirkt auf Eiweifs wie eine siedende Säure unter Bildung von Leucin, Tyrosin, Asparagin-, Glutaminsäure und Ammoniak.

Diese Wirkung kommt aber nur in der hungernden Hefe zu stande; unter günstigen Lebensbedingungen jedoch scheint das Enzym nur auf die in die Zelle hinein diffundierten stickstoffhaltigen Nährstoffe der Würze zu wirken und dieselben so weit zu verändern, dafs sie die Hefe zum Aufbau ihres Plasmas verwerten kann. Es kann demnach das Trypsin

zeitweise als konstruierendes, zeitweise als destruierendes Enzym auftreten. (Kutscher.)

Eine Oxydase kommt auch noch in der Hefezelle vor: sie bewirkt bei Gegenwart von Sauerstoff eine lebhafte Atmung, verbunden mit Temperatursteigerung. Stark gekrümelte Preſshefe, 20 cm hoch geschichtet, kann sich bis 40° C. und darüber erhitzen. Im Vakuum tritt unter sonst gleichen Verhältnissen keine Temperatursteigerung ein.

Leitet man 5—6 Stunden lang Luft durch Hefe, dann tritt Verflüssigung und völlige Erschöpfung der Hefe ein (Effront).

Neuerdings hat Grüſs dieses Enzym genauer studiert und in dem Tetramethylparaphenylendiaminchlorid einen Körper gefunden, der es durch eine Farbenreaktion anzeigt.

Die Hefe färbt sich in Berührung mit diesem Körper dunkelviolett, und zwar wirkt die in ihr enthaltene Oxydase in der Weise, daſs der Sauerstoff der Luft auf jene Aminverbindung übertragen wird, wodurch ein dunkelvioletter Farbstoff gebildet wird.

Man bringe auf Filtrierpapier eine sehr verdünnte Lösung jener Verbindung und lege dann etwas gepreſste gelagerte Hefe in kleinem Häufchen auf; alsbald entsteht ein dunkelvioletter Rand. Bei obergäriger Hefe bleibt derselbe oft aus, sofern nicht etwas Soda vorher hinzugefügt wurde.

Je länger obergärige Hefe gelagert hat, desto weniger bedarf es des Sodazusatzes.

Frische Hefe, welche direkt aus dem Gärbottich genommen, reagiert nicht; trotzdem ist Oxydase vorhanden, jedoch durch einen Körper paralysiert, welcher durch Glycerin ausgezogen werden kann..

Diese Oxydase wirkt nicht auf Guajak.

Aldehyd oxydiert sie zu Essigsäure, sie reagiert auf fuchsinschweflige Säure und Methylenblau, welches reduziert ist, und auf Phenylhydracin in Gegenwart von Soda, wobei jenes in einen Diazokörper verwandelt wird.

Man könnte versucht sein zu glauben, daſs solche Organismen, welche keinen Zucker vergären, auch keine zuckerspaltende Enzyme erzeugen. Dies ist nicht der Fall. Die Orangehefe aus Mazun, sowie verschiedene Torula- und andere Hefen erzeugen Invertin, trotzdem sie nicht in Rohrzucker gären. Es fehlt ihnen das eigentliche Gärungsenzym: die Zymase. Bei manchen Organismen hat man zwar Gärung beobachtet, aber das den betreffenden Zucker spaltende Enzym nicht. So wurde einige Zeit die Monilia candida als Ausnahme hingestellt, weil sie Rohrzucker ohne Invertin vergären sollte. Durch Emil Fischer ist aber doch der Nachweis erbracht, daſs ein solches vorhanden ist, wenn es auch von dem gewöhnlichen Invertin dadurch abweicht, daſs es nicht aus der Zelle von selbst heraus diffundiert. Die Zelle muſs erst zerrieben werden, ehe die Spaltung des Rohrzuckers möglich wird. Die Vergärung des Rohrzuckers findet also bei solchen Zellen im Zellinnern statt.

Nachweis der Spaltung von Polysacchariden.

Die zu prüfenden Hefen werden mittels Pukallscher Thonfilter filtriert, mit sterilisiertem kalten Wasser gründlich ausgewaschen, bis jede mit Fehlingscher Lösung nachweisbare Spur von Zucker entfernt ist, und nachher frich verarbeitet oder auf sterilisierten Thontellern 3 Tage lang bei Zimmertemperatur an der Luft getrocknet. Frische Hefen wirken durchschnittlich viel schwächer als getrocknete.

Bei frischer Hefe bringt man

0,6 g Hefe 0,6 g Zucker 6 cc steriles Wasser 0,075 g Toluol zusammen;

bei trockner Hefe bringt man

0,25 g Hefe 0,5 g Zucker 5 cc steriles Wasser 0,075 g Toluol zusammen.

Nach ordentlichem Umschütteln werden die Präparate in zugeschmolzenen Reagenzröhrchen im Brutofen 42 Stunden bei 24—25 ° C. aufbewahrt.

Bei Rohrzucker, Raffinose, α-Methylglukosid, Trehalose und Melicitose wird mit Fehlingscher Lösung titriert. Bei Maltose, Melibiose und Laktose kommt die Osazonprobe zur Anwendung, da diese Zucker Fehlingsche Lösung nicht reduzieren.

Die gespaltene Maltose wird durch Glukosazon folgendermafsen bestimmt:

Es werden auf 0,6 g Maltose 0,825 g Phenylhydrazin und 0,825 g 50 %ige Essigsäure verwendet. Das Präparat wird $1^1/_2$ Stunden auf dem Wasserbad erhitzt, das Phenylglukosazon alsdann von dem löslichen Maltosazon durch kochendes Wasser getrennt und hierauf gewogen.

Der Toluolzusatz geschieht, um die Gärung zu verhindern, also die Zymase unwirksam zu machen und das betreffende Enzym allein arbeiten zu lassen.

Emil Fischers Vermutung, dafs die spaltende Wirkung der Enzyme stets der Vergärung vorausgeht, hat sich bisher überall bestätigt.

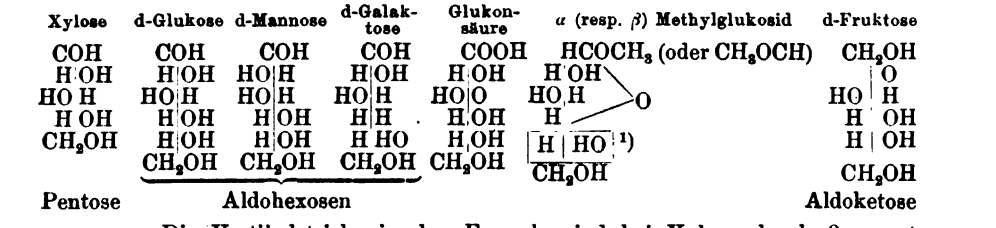
Von den in Hefenzellen enthaltenen Enzymen wirken nur diejenigen auf die Polysaccharide ein, welche mit diesen verwandte Konfiguration haben und ähnlich wie Schlüssel und Schlofs zusammenpassen.

Auch die Gärung der Monosaccharide ist von deren stereochemischem Bau und dem der angreifenden Enzyme abhängig. Vorerst sind jedoch die letzteren noch nicht wie die ersteren rein dargestellt und in ihrer Zusammensetzung genauer gekannt.

(Zusammenstellung s. folg. Seite.)

Weitere Veränderungen in der Stellung der OH-Gruppe an den vier asymetrischen Kohlenstoffatomen der nachfolgend dargestellten Aldohexosen hebt das Gärvermögen überhaupt auf. Die Hefen sind mithin in Bezug auf die Konfiguration des Moleküls sehr wählerisch. Obwohl sie im

Nachstehende Konfigurationsformeln aus der Zuckergruppe mögen zeigen, wie man sich den Bau der Zuckermoleküle vorstellt:



Die Vertikalstriche in den Formeln sind bei Xylose durch 3, sonst durch je 4 C-Atome ersetzt zu denken.

allgemeinen den gleichen Geschmack haben, sind einige jedoch besonders empfindlich, wie S. apiculatus, welcher sogar die Galaktose verschmäht. Fischer und Thierfelder nehmen an, dafs die Eiweifskörper der Hefe, die ja aus den Kohlehydraten synthetisch entstehen und die ja auch optisch aktiv sind, im wesentlichen, was die Asymetrie betrifft, einen ähnlichen geometrischen Bau der Moleküle haben werden wie die vergärbaren Zucker. Es werden also die Hefezellen mit ihrem asymetrisch geformten Agens (den Enzymen) nur in die Zuckerarten eingreifen, deren Geometrie nicht zu weit von der des Traubenzuckers abweicht.

Beispiel eines Spaltungsversuchs. Fischer prüfte das Verhalten eines Auszuges von lufttrockner Bierhefe (1 : 15 Wasser, 15 Stdn. bei 30° gestanden) gegenüber α- und β-Methylglukosid (1 : 10 Teilen Auszug), liefs 20 Stdn. bei 30—35° einwirken und erhielt bei der Titration das Resultat, dafs

50 % des α-Methylglukosides von der Hefe gespalten war, während
von dem β- „ „ „ nichts verändert war.

Emulsin spaltet umgekehrt die β-Vbdg., nicht die α-Vbdg. Die entsprechenden Verbindungen der l-Glukose werden weder von der Hefe noch vom Emulsin angegriffen.

α-Methylgalaktosid wird von Hefe gespalten, von Emulsin nicht
β- „ „ „ „ „ Emulsin „ „ Hefe „
α- u. β- „ Mannosid „ weder von „ noch „ „ gespalten.

Ein Versuch, den S. Pastorianus I durch eine dreimonatliche Kultur in einer Lösung von Traubenzucker und l-Mannose zur Vergärung der letzteren geeignet zu machen, schlug fehl. Die l-Mannose blieb unvergoren zurück.

Interessant ist auch die von Croft Hill aufgedeckte Thatsache, dafs durch einen Hefenauszug, welcher Maltose in Glukose spaltet, auch umgekehrt Glukose zu einem Disaccharid, das nach Emmerling Isomaltose ist, kondensiert werden kann.

---

[1]) Denkt man sich die eingeschachtelte Gruppe HCOH weg, dann erhält man die Formel für das entsprechende (α- oder β-)Methylxylosid.

§ 31. Gärversuche in Bierwürze.

In der Bierwürze sind verschiedene Zucker vorhanden. Die Kulturhefen geben sämtlich in Würze eine mehr oder weniger kräftige Gärung. Dies thun aber nicht alle Hefen. Viele vermögen die in der Würze vorwiegend vorhandene Maltose nicht zu vergären, vielleicht nur Rohrzucker oder Dextrose, oder auch diese nicht einmal. Da Würze Dextrose stets nur in geringen Mengen enthält, wird sich bei der Aussaat einer Dextrose vergärenden Hefe nur eine schwache Gärung einstellen. Um diese in den kleinen Würzefläschchen, an denen wir unsre ersten Beobachtungen machen, deutlicher wahrnehmen zu können, bringen wir das Fläschchen an eine ganz kleine Flamme. An der betreffenden Stelle bemerken wir alsbald das Aufsteigen kleiner Bläschen. Auch durch Einführung eines warmen Glasstabes können wir in der Würze leicht die Gegenwart von Kohlensäure nachweisen. Ist vielleicht infolge zu geringer Dextrosemengen keine Gasentwicklung bemerkt worden, dann gießen wir einen Teil der Würze in ein zweites Fläschchen und geben etwas sterilisierte Dextroselösung zu; mit dem anderen Teil der Würze vermischen wir eine Rohrzuckerlösung. Werden diese Zuckerarten vergoren, dann stellt sich sehr bald eine deutlich sichtbare Gasentwicklung ein.

Verschiedene Hefen rufen in der Regel auch verschiedene Gärungserscheinungen hervor. Wir sprechen von untergärigen Hefen, im Gegensatz zu obergärigen. Für letztere ist charakteristisch, daß auf der gärenden Flüssigkeit sich stark hefige Kräusen bilden; bei den untergärigen Hefen entwickelt sich zwar auch ein starker Schaum und dicke Kräusen, aber die Blasen sind nicht milchig, sondern sehen infolge ihres geringen Gehaltes an Hefezellen mehr glasig aus.

Die Beschaffenheit der Kräusen, die Ausscheidung der Hopfenbestandteile der Würze, die mehr oder weniger schnelle Angärung, die Art des Absetzens der Hefe, die mehr oder weniger schnelle Klärung, die Gärdauer, die Hefenernte, der Vergärungsgrad, die Gärkraft, der Geschmack und Geruch der vergorenen Flüssigkeit, alles dieses sind Momente, die für die Charakteristik der einzelnen Hefe Bedeutung haben.

Bestimmung der Endvergärung nach Delbrück und Irmisch.[1])

Besonders wichtig ist es, festzustellen, wie weit eine Hefe im stande ist, eine Würze zu vergären. Das werden wir annähernd genau durch

[1]) Irmisch, der Vergärungsgrad, zugleich Studien über zwei Hefencharaktere. Wochenschrift für Brauerei 1891.

einen einfachen Gärversuch erfahren können. Wir geben zu ca. 500 ccm Würze 2—3 g Hefe und lassen die Gärflasche, die 1—2 Liter Inhalt haben möge und mit einem einfachen Wattepfropf verschlossen ist, für den ersten Tag bei Zimmertemperatur stehen; später stellen wir sie in ein Gärbecken, dessen Wasser ungefähr auf 25° C. eingestellt ist. Wir schütteln namentlich während der Angärung öfters tüchtig um, damit die jungen Generationen Gelegenheit haben, Sauerstoff zur Genüge aufzunehmen. Durch tägliche Wägungen stellen wir den Verlauf der Vergärung fest; dabei wiederholen wir jedesmal das Umschütteln, damit die in der Flüssigkeit aufgespeicherte Kohlensäure zum grofsen Teil entweicht. Ist an mehreren aufeinanderfolgenden Tagen keine Abnahme mehr zu bemerken, dann spindeln wir die von der Hefe möglichst vorsichtig abgezogene Flüssigkeit mit dem Saccharometer, nachdem sie noch durch ein Faltenfilter filtriert worden ist. Findet man während des Versuches, dafs die Hefe sich sehr schnell zu Boden setzt und hier gewissermafsen einen zusammenhängenden, kompakten Kuchen bildet, dann ist es angezeigt, die Flaschen öfter zu schütteln und zu durchlüften; durch Zugabe von indifferenten Stoffen, wie Trebermassen, Gärfasern, kann die Hefe zur vollen Leistung gezwungen werden.

Nachstehend gebe ich eine in unserem Laboratorium von Schukow durchgeführte Versuchsreihe wieder, bei der die Hefen auf wirkliche Endvergärung geprüft wurden.

Die Gärungen wurden derart eingeleitet, dafs 100 ccm steriler Würze in Fläschchen mit Watteverschlufs mit je einer Platinöse Hefe von der Gelatinekultur geimpft wurden; im Stadium der Angärung (etwa nach 24 Stunden) wurde in Gärflaschen übergegossen, die vorher mit 400 ccm von derselben Würze beschickt worden waren.

Die Gärflaschen wurden mit Wattepfropfen versehen. Die Gärung wurde bei einer Temperatur von ca. 25° C. geführt und die Flaschen einmal täglich geschüttelt. Der Versuch dauerte so lange, bis der Verlust der Kohlensäure in den letzten Tagen nicht 0,3 g in 24 Stunden überstieg.

(S. Tabelle S. 204.)

Aus dieser Tabelle ersieht man, dafs die Hefen 128, 80, 77, 33 und 35 vom Typus Frohberg, die Hefen 130 und Peoria vom Typus Saaz sind, die Hefen 129, Apiculatus, Anomalus, Exiguus und Ludwigii sehr wenig, wahrscheinlich nur Dextrose vergären und drei: Logos, Pombe und Octosporus noch weiter als Frohberg vergären.

Wie man schon früher darauf hingewiesen hat, sollen die Hefen Logos und Pombe die Dextrine vergären. Jetzt müssen wir auch Octosporus zu diesen Hefen rechnen.

Die Mischungen von den Hefen 128 (Rasse II) + 129 + 130 und 128 (Rasse II) + 129 haben den Vergärungsgrad gegeben, welchen

Gärversuche in ungehopfter Würze von 11,3° Balling.

Nummer der Sammlung und Art der Hefe	Sacch.-Anzeige nach der Gärung	Säurezunahme während der Gärung, ausgedrückt in Kubikcentimeter Normalnatron pro 20 ccm Würze	Scheinbarer Vergärungsgrad	Gärdauer Tage	Temperatur	Zusammensetzung der Würze
128 Rasse II } Aus einer Brennereimaische isoliert	2,8	0,2	75,2	13	20—22° Réaumur	Ungehopfte Würze von 11,3° Balling — pro 20 ccm Würze waren 0,2 ccm Normalnatron zur Neutralisation erforderlich
129 . . . . . }	9,5	0,1	15,9	13		
130 . . . . . }	4,3	0,2	61,9	14		
80 Prefshefe (Rasse I)	2,7	0,2	76,1	14		
77 Prefshefe (Rasse IV) . . .	2,9	0,2	74,3	14		
33 } Weifsbierhefen	2,9	0,2	74,3	13		
35 }	2,8	0,2	75,2	14		
19 Frohberg } untergärige Brauereihefen	2,9	0,2	74,8	11		
6 Saaz . . . }	4,8	0,15	61,9	11		
Peoria[1]	4,3	0,2	61,9	11		
Octosporus	1,9	0,1	83,2	17		
Pombe	1,8	0,25	84,0	13		
Logos[2]	0,7	0,2	93,8	15		
Apiculatus	9,8	0,1	13,2	10		
274 Anomalus	9,3	0,15	17,7	13		
Exiguus	9,8	0,1	13,2	10		
Ludwigii	9,8	0,05	13,2	10		
Mischungen:						
128 + 129 + 130	2,9	0,2	74,3	12		
128 + 129	2,9	0,2	74,3	13		
Pombe + Logos	0,8	0,25	97,3	14		
Octosporus + Logos	0,35	0,2	96,7	16		
Octosporus + Pombe	1,35	0,2	88,05	14		
Rasse II + Octosporus + Pombe	1,25	0,25	88,9	14		
Mit Lüftung:[3]						
128 + 129 + 130	2,8	0,2	75,2	12		

[1]) Amerikanische Brennereihefe, welche Herr Professor Dr. Delbrück aus Peoria (Amerika) mitgebracht hat. — „Naturhefe“ — das Hefengut kommt in dieser Brennerei von selbst in Gärung.

[2]) Diese Hefe wurde von van Laer aus einer brasilianischen Bierhefe isoliert und in ihrem Verhalten in Würze zuerst genauer studiert. Moniteur scientifique Paris 1895: Notice sur une levure à atténuation-limite très élevée. Par van Laer et Denamur.

[3]) Die Würze wurde die ersten 6 Tage täglich 2 Stunden gelüftet.

die Hefe 128 (Rasse II) allein geben kann. Die Lüftung hat den Vergärungsgrad nicht verändert.

Die Mischungen von den Hefen:

a) Logos + Pombe,
b) Logos + Octosporus,
c) Octosporus + Pombe,
d) Octosporus + Pombe + Rasse II

vergären die Würze weiter, als jede von den Arten allein. Besonders weit vergären die Mischungen:

a) Logos + Pombe und
b) Logos + Octosporus.

Die näheren Beziehungen der Hefe Pombe zu Logos bezüglich der Dextrine sind eingehend von Rothenbach studiert worden und glaubt derselbe die Existenz zweier verschiedener Dextrine annehmen zu sollen, von denen jedes nur von der einen resp. der anderen Hefe vergoren wird.

Schukow hat noch weitere Versuche mit derselben Würze angestellt, jedoch letztere vor der Gärung durch den Pediococcus acidi lactici resp. das stäbchenförmige Milchsäureferment der Malzmaischen so weit ansäuern lassen, dafs 0,65 ccm Normalnatron auf 20 ccm zur Neutralisation nötig waren. Der Vergärungsgrad ist der nämliche geblieben wie oben; auch die Art der Bakterien hat keinen Einfluſs gehabt. Nur haben die Hefen in der sauren Würze keine Säurezunahme gegeben. Auch die Lüftung hat hier keinen Einfluſs auf den Endvergärungsgrad gehabt.

Bei einem dritten Versuch mit den Hefen 6 und 19 (Saaz und Frohberg) wurde die gleiche oben erwähnte Würze benützt, dieselbe aber zum Teil gehopft resp. auch noch mit 1 % Pepton versetzt. Der Hopfenzusatz hat keinen Einfluſs auf den Vergärungsgrad gezeigt, nur ging die Gärung langsamer. Der Zusatz von 1 % Pepton hat aber bewirkt, dafs in der gehopften Würze die Gärung ebenso schnell verlief, wie in der ursprünglichen ungehopften. In der Peptonwürze setzten sich die Hefen viel fester ab, so dafs es schwer war, sie aufzuschütteln, und sahen auch unter dem Mikroskop kräftiger aus.

Nach Prior läſst sich bei den schwach vergärenden Hefen vom Typus Saaz die Vergärung noch weiter treiben, dafs sie der Hefe Frohberg gleichkommt, wenn man bei noch höherer Temperatur, bei 32 bis 35° C., bei reichlicher Hefengabe, bei gleichzeitiger Lüftung und Bewegung für Abfuhr des gröſsten Teils der flüchtigen Gärungsprodukte durch Destillation im luftverdünnten Raum sorgt und letztere so leitet, dafs alle 12 Stunden das mit Wasser wieder aufgefüllte Volumen ungefähr zur Hälfte verschwunden ist.

Dafs man es aber hier mit einer Vergärung des Extrakts zu thun haben soll, wird sehr zweifelhaft, wenn man in Betracht zieht, dafs die

angewandten Temperaturen beinahe Optimumtemperaturen für die Atmung der Hefe sein dürften. Diese wird durch die reichliche Luftzufuhr noch befördert, und da ist es wohl wahrscheinlicher anzunehmen, dafs der noch verschwindende Extrakt einfach assimiliert oder verbrannt wird; ist doch sogar für gewöhnliche Temperaturen von Raimann und Kruis gezeigt worden, dafs Kahmhäute von untergärigen Hefen bei reichlichem Luftzutritt schliefslich sogar den Alkohol verbrennen und nach dem Verschwinden gärfähiger Kohlenhydrate auch noch die Eiweifskörper angreifen und sie bis zu Amiden und Ammoniaksalzen organischer Säuren umwandeln.

Wie dem auch sei, zur Charakterisierung von Hefen ist die Bestimmung des Endvergärungsgrades nach Delbrück aufserordentlich zweckmäfsig.

Besonders zahlreich sind die Saazhefen bei den Weinhefen vertreten; Frohberg-Hefen bilden hier geradezu Ausnahmen (Schukow).

In der Gruppe der wilden Hefen aus Bier sind ungefähr die Hälfte der untersuchten Arten dem Saaztypus angehörig. Bei den obergärigen und untergärigen Brauereihefen wird der Saaztypus schon ziemlich selten; unter den Brennerei- und Preſshefen ist bisher nur eine einzige Saazhefe (Nr. 130) gefunden worden.

Nach Feststellung der Zugehörigkeit der Hefe zu dem einen oder anderen Typus werden

Gärversuche bei gewöhnlicher Temperatur

für eine weitere Differentialdiagnose auszuführen sein.

Durch Wahl einer mittleren Temperatur, vielleicht 16—18° C., wird die Gärdauer und damit auch das Gärungsbild etwas in die Länge gezogen, wobei wir manches eingehender studieren können, wie z. B. die Kräusenbildung, die Klärung, die Gestaltung des Bodensatzes.

Hier wird man zweckmäfsig ebenfalls tägliche Wägungen vornehmen. Es kann bei dieser Versuchsanstellung vorkommen, dafs gegen das Ende der Gärung einige Tage hindurch eine Gewichtsabnahme nicht mehr festzustellen ist, während späterhin wieder eine solche stattfindet. Diese Erscheinung ist vielleicht nicht immer auf eine weitere Zuckerzersetzung zurückzuführen. Die bei niederen Temperaturen gehaltenen Gärflüssigkeiten haben bei dem ruhigen Stehen reichlich Kohlensäure aufgenommen. Wärmere Strömungen im Gärbecken oder geringe Erschütterungen oder geringerer Luftdruck können nun leicht eine Abgabe eines Teils der absorbierten Kohlensäure veranlassen. Weiterhin wird die durch die intramolekulare Atmung der Hefe erzeugte Kohlensäure hierbei eine Rolle spielen. Die Hefen speichern im Lauf der Gärung mitunter beträchtliche Mengen Glykogen auf, ein Kohlehydrat, das nachher wieder veratmet werden kann. Wo eine starke Hefenvermehrung eingetreten ist, ist natürlich auch ein gröfserer Teil der

vergärbaren Substanz zur Bildung der Zellhäute und des Plasmas zur Verwendung gekommen. Hier wird auch die Atmung eine kräftigere sein, als bei wenig Hefe.

Die Hefenernte wird entweder nach der Zahl der Zellen oder nach dem Gewicht bestimmt; im ersteren Falle gelten die auf Seite 138 u. ff. gemachten Angaben. In dem letzteren Fall bringt man die Hefe auf ein Filter und preſst sie zwischen dicken Lagen Filtrierpapier ab, bis sich ein muscheliger Bruch zeigt. Hat man verschiedene Hefen gleichzeitig in Arbeit, so ist es nicht leicht, annähernd denselben Grad der Feuchtigkeit zu bekommen. Unter Umständen wird man auch die Trockensubstanz feststellen müssen.

Die täglichen Wägungen der Gärflaschen hatten hauptsächlich den Zweck, den Gang der Gärung zu verfolgen. Ist die Gärung beendet, dann entkohlensäuren wir die vergorene, von der Hefe bereits abgegossene Flüssigkeit und spindeln mit dem Saccharometer. Das Entkohlensäuern geschieht durch kräftiges Schütteln in einer geräumigen Flasche oder durch wiederholtes Umgieſsen aus einem hohen cylindrischen Metall- oder Glasgefäſs in ein anderes und nachheriges Filtrieren durch ein Faltenfilter. In einem Standcylinder fangen wir das Filtrat auf und bringen es auf die vorgeschriebene Temperatur (17,5° C.), ehe wir mit dem Saccharometer spindeln. Aus der ursprünglichen Saccharometeranzeige und der am Ende erhaltenen bestimmen wir die „scheinbare Vergärung".

Eine Würze, die ursprünglich 14° Balling hatte und bis zum Schluſs der Gärung um 8° Balling herunterging, also bis auf 6, hat eine scheinbare Vergärung von 57,1 % nach der Gleichung $14 : 8 = 100 : x$.

Um die wirkliche Vergärung festzustellen, müssen wir ein bestimmtes Gewicht der vergorenen Flüssigkeit durch Kochen vom Alkohol befreien. Nach dem Abkühlen wird mit destilliertem Wasser auf das ursprüngliche Gewicht aufgefüllt und gespindelt. Die Berechnung ist genau so wie die vorige. Näheres siehe in Windisch „Das chemische Laboratorium des Brauers". Berlin 1901. Verlagsbuchhandlung Paul Parey.

Vorhin hatten wir angenommen, daſs uns zum Anstellen der Gärung Hefe in gröſserer Menge und in gepreſster Form zur Verfügung steht. Oft werden wir uns aber die Hefe erst in Pasteurschen Kolben heranzüchten müssen. Für eine gute Hefenvermehrung ist reichliche Lüftung im ersten Gärungsstadium erforderlich. Wir versehen die Kolben daher mit Wattefiltern und blasen Luft längere Zeit hindurch. Ist ein fester Bodensatz entstanden, dann warten wir nicht allzulange mit dem Abgieſsen der darüber stehenden vergorenen Flüssigkeit. Wir flambieren das gebogene Rohr des Pasteurkolbens und blasen durch dasselbe die Flüssigkeit heraus. Den Kolben verbinden wir nun mit einem zweiten,

der eine gröfsere Menge Würze enthält, und spülen die Hefe mit etwas Würze aus jenem in diesen herüber. Nachdem eine kräftige Bodensatzbildung eingetreten ist, entleeren wir den Kolben bis auf so viel Flüssigkeit, dafs damit die Hefe bequem aufgeschüttelt und aufs Filter gebracht werden kann. Mitunter wird man auch statt mit gepreſster Hefe mit einer abgemessenen Menge Würze, die in kräftiger Angärung steht, eine neue Gärung einleiten können. Dieses Verfahren hat den Vorteil einer geringeren Infektionsgefahr, da man keine Hefe abzupressen braucht; ferner hat man dabei die Gewifsheit, dafs die Mehrzahl der ausgesäeten Zellen von kräftiger Beschaffenheit ist. Man weifs zwar ohne Anwendung der Hefenzählkammern nicht genau, wie grofs die Aussaat ist, aber auch bei abgepreſster Hefe wissen wir nicht, wieviel kräftige Zellen wir zur Aussaat bringen.

Das ist der schwierigste Punkt bei allen Gärversuchen: Die Erzielung einer Aussaathefe von einem bestimmten physiologischen Zustand. Wollen wir Hefen untereinander vergleichen durch wiederholte Gärversuche, so müssen wir uns dessen bewufst sein, dafs auch bei Innehaltung gleicher Versuchsbedingungen wir dennoch nicht den verschiedenen Hefen in gleicher Weise gerecht geworden sind. Die eine Hefe ist bei derselben Gärdauer mehr geschwächt als die andere. Die eine hat vielleicht eine starke Angärung gehabt und infolgedessen auch längere Zeit unter der Einwirkung gröfserer Mengen von Alkohol und Kohlensäure u. s. w. gestanden, als die andere mit einer schwachen Angärung. Die eine Hefe hat sich frühzeitig zu Boden gesetzt, während die andere in der Flüssigkeit verteilt blieb. Hier sind also eine Menge Faktoren wirksam, welche eine Verschiedenheit des physiologischen Zustandes der zu erntenden und später als Aussaat zu benutzenden Zellen bedingen.

Wir dürfen uns nicht verleiten lassen, aus den Gärungserscheinungen bei den Laboratoriumsversuchen allzu weitgehende Schlüsse bezüglich des in der Praxis zu erwartenden Verhaltens zu machen. Die Form der Gefäfse, die Höhe der Flüssigkeitssäule, der Gang der Temperatur, die Art des Luftzutritts und vor allem die Zusammensetzung der Würze sind nicht ohne Einfluſs auf das Gärungsbild [1]).

---

[1]) Um ein Beispiel aus der Praxis anzuführen, wurde in Bjerholms Aktienbrauerei in Kopenhagen durch Centrifugieren der Würze bei Anwendung derselben Hefe der scheinbare Vergärungsgrad von 46,1 auf 64,5 erhöht. Die intensive Lüftung der heifsen Würze hat in erster Linie diese Veränderung hervorgerufen. Eine bemerkenswerte Veränderung machte auch die Hefe selbst durch. Während sie in der nichtcentrifugierten Würze sich stets so fest absetzte, dafs sie gar nicht oder nur schwer aus dem Spundloch des Bottichs entnommen werden konnte, war sie in der centrifugierten Würze ganz lose und dünnflüssig. Die Unterschiede erinnerten lebhaft an die bei den beiden Rassen Carlsberg Hefe Nr. I und II unter normalen Verhältnissen beobachteten. Carlsberg Hefe Nr. I vergärt in derselben

Einen guten Einblick in die hier in Betracht kommenden Verhältnisse gewährt eine vom Verfasser ausgearbeitete Tabelle, welche in der Wochenschrift für Brauerei 1894 No. 13 veröffentlicht ist. Hier sind die Resultate sehr umfangreicher Versuchsreihen, die vom Verfasser zum Teil unter Mitwirkung von Irmisch und Gronow ausgeführt wurden, gegeben. Die Tabelle giebt uns gleichzeitig eine Vorstellung von der grofsen Zahl der existierenden Heferassen. Mit einer Besprechung derselben erledigen wir gleich mehrere Dinge, die wir sonst im Abschnitt über Hefenkunde in Betracht zu ziehen hätten.

Da es unmöglich war, sämtliche Hefen vollständig zu charakterisieren, ist auch von einer besonderen Bezeichnung derselben abgesehen worden; in der Tabelle sind sie mit der Nummer, welche sie in der Liste der Hefensammlung der Berliner Versuchsstation führen, versehen, und, je nachdem sie als untergärige oder obergärige Kulturhefen oder als wilde Hefe sich kennzeichneten, in den Rubriken u, o, k verteilt worden. Ob die obergärigen Hefen aus Preſshefenfabriken oder Brennereien oder Weifsbierbrauereien stammen, ist durch ein der Nummer beigefügtes p, b und w zum Ausdruck gebracht.

Erläuterungen zu den (am Schlufs des Buches) in graphischer Darstellung gegebenen Tabellen.

Im ganzen handelt es sich um drei grofse Gruppen von Versuchen, von denen die erste im Frühjahr 1889, die zweite 1890 und die dritte 1891 ausgeführt worden ist.

Wir befassen uns zunächst mit der 1889er Versuchsreihe auf Tabelle II oben.

Sieben untergärige Hefen sollten zunächst untereinander verglichen werden, dann aber sollten die Gärungen wiederholt werden, und zwar unter Verwendung derselben gehopften Bierwürze.

Durch die wiederholten Gärungen sollte zunächst festgestellt werden, ob das äufsere Gärungsbild sich bei jeder Hefe wiederholt, dann, ob auch in der Vergärung und Hefenausbeute Parallelen sich ergeben würden. Da die Gärungen über beinahe 2 Monate sich erstreckten, mufste eine gröfsere Menge von Würze vorrätig gehalten werden. Dies geschah unter Zuhilfenahme einer Trommel von dem kleinen Lindnerschen Reinzucht-Apparat.

Die in Rede stehende Versuchsreihe ist dadurch zu einer gewissen Bedeutung gelangt, dafs hier zum erstenmal die von mir kurz zuvor

---

Würze stärker als Carlsberg Hefe Nr. II, die Hefe setzt sich dort aber lose, hier fest ab. Durch geeignete Gärführung läfst sich der Vergärungsgrad bald erhöhen, bald herunterdrücken.

isolierte Hefe Saaz wirklich sich als konstant schwach vergärende Hefe erwies[1]).

Wir finden die Versuche in der Tabelle II unter den Nummern **46—66.**

Einiges über die Versuchsanstellung. Die Hefen wurden von Würzegelatine abgeimpft und in kleine Pasteursche Kolben übertragen, die 1/4—1/2 Liter Würze enthielten. Die nach 8 Tagen erhaltenen Bodensätze kamen in Gärflaschen mit je 3/4 Liter Würze; die daraus erzielte Hefenernte wurde etwas gewaschen, dann gepreſst und je 2,6 g Hefe zum Anstellen von je 1 Liter steriler gehopfter Würze verwendet. Die Gärflaschen erhielten, nachdem Würze und Hefe tüchtig durch Schütteln vermischt waren, Schwefelsäureverschlüsse. Täglich wurden die Gärflaschen gewogen und die Abnahme notiert. Um Temperaturverschiedenheiten zu vermeiden, waren sie in ein gröſseres Gärbecken gestellt worden, dem beständig Leitungswasser zufloſs.

Die Temperaturen konnten sich immer nur gleichzeitig ändern, wenn das Leitungswasser wärmer oder kälter wurde. Die Würze war gewöhnliche gehopfte Würze von 12,5° Bllg. Die späteren Versuchsreihen wurden mit der Hefe von der vorangegangenen angestellt.

	Aussaat:	Gärdauer vom	im ganzen	Temperatur ° R.
Versuchsreihe	I 2,5 g gepr. Hefe	27./4.— 7./5. 1889	240 Std.	8—12
„	II 4 g „ „	10./5.—18./5. „	192 „	11—13
„	III 5 g „ „	22./5.—28./5. „	144 „	13—15

Ergebnisse: Die Hefe Nr. 6 (Saaz) steht in schroffem Gegensatz zu den übrigen bezüglich der Vergärung, nicht so bezüglich der Hefenernte. Die punktierten Linien verlaufen annähernd parallel, mit anderen Worten: die Hefenernte ist groſs, wenn viel Extrakt, und gering, wenn wenig Extrakt vergoren ist; in zwei Ausnahmen, bei den Hefen Nr. 4 und 10, ist trotz stärkerer Vergärung resp. niedrigerer Saccharometeranzeige die Hefenernte gefallen. Auffallend ist ferner die geringe Hefenernte bei der dritten Versuchsreihe mit der gröſseren Aussaat und der höchsten Gärungstemperatur; auch die Vergärung ist geringer, auſser bei Hefe Nr. 4 und 10. Bei längerer Gärdauer wäre hier vielleicht noch etwas nachgeholt worden, doch wollte ich keine zu geschwächte Stellhefe erzielen, da auch die äuſseren Gärungserscheinungen verglichen werden sollten.

Äuſsere Gärungserscheinungen.

a) Hinsichtlich der Kräusenbildung. Die Hefen 4, 10 und 11 bildeten stets zuerst und die höchsten Kräusen, gleichgültig, ob sie bei der Angärung weniger oder mehr Kohlensäure als die anderen Hefen entwickelt hatten; die Kräusen hielten sich hier auch durchweg am längsten.

---

[1]) Sie stammt aus der Betriebshefe einer Saazer Brauerei, von wo sie durch Herrn Professor Reinke wegen ihrer schwachen Vergärung hierher gebracht und mir zur Untersuchung übergeben worden war. Eine eingehende Untersuchung hat sie später durch Delbrück und Irmisch erfahren. Sie hat übrigens auch den Weg in fast alle gärungswissenschaftlichen Laboratorien genommen und ist allenthalben daselbst mit ihr experimentiert worden.

b) Hinsichtlich der Bodenhefe. Die jeder Hefe eigenartigen Oberflächengestaltungen kehrten regelmäfsig wieder; 10 ergab eine gleichmäfsige Schicht, in der kleine Grübchen, wie mit einem Stecknadelkopf eingedrückt, sich bildeten, aus denen Kohlensäurebläschen in ziemlich regelmäfsigen Zeiträumen entwichen; 6 hatte eine ähnliche Schicht gebildet, nur hatten die Grübchen weniger schroff abfallende Ränder. Hefe 4: wie die vorige, nur mit zahlreicheren Grübchen; 11: wie bei 4, nur die zwischen den Grübchen liegenden Hügel höher gewölbt. 1: Grübchen sehr zahlreich, auf der Spitze der Hügel neue kleinere Grübchen sich bildend. 2: aus der ebenen Schicht ragen ziemlich häufig ringförmige Wulste heraus, aus denen beständig Kohlensäurebläschen entweichen. 5: ebensolche Wülste, nur dieselben viel seltener, dafür aber kräftiger entwickelt. Beim Aufbringen der Hefe auf das Filter: 5 beim Aufschütteln mit Wasser sich fast staubig darin zerteilend, teilweise aber schmierig am Glase haftend. 4: mit Wasser vorerst in gröfseren Klumpen auseinandergehend, beim Schütteln dann eine ziemlich dickbreiige, schaumige Masse gebend. 2 zerteilt sich in ganz kleine Klumpen, die sich aber nicht weiter auflösen und beim Stehen augenblicklich zu Boden fallen. Filtration in kürzester Zeit vollendet. Die übrigen Hefen in Wasser flockig sich zerteilend und ziemlich schnell sich absetzend.

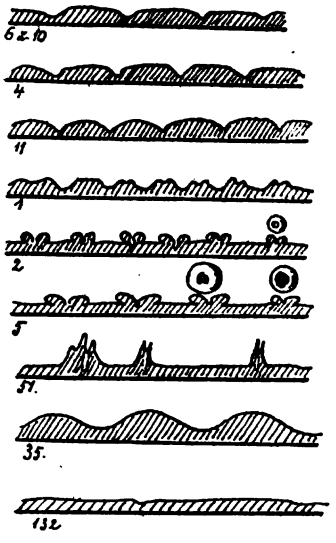


Abb. 104.

Bodensatzprofile der Hefen 6 u. 10, 4, 11, 1, 2. 5 aus den Gärversuchen 46—66 } siehe Tabelle II
35 „ „ „ 86 }
132 „ „ „ 95 }
51 „ „ „ 12 „ „ I

c) Hinsichtlich der Wandbeläge. Solche traten nur in der zweiten und dritten Versuchsreihe auf in der Form zarter hautartiger Schleier, die bei geringen Erschütterungen in grofsen Fetzen sich ablösten. In der zweiten war am Ende der Gärung die Wandung bis zu 1/3 der Höhe des Würzestandes über dem Boden verschleiert, bei der dritten fast bis zur Oberfläche.

d) Hinsichtlich der Klärung. 5 hinkte jedesmal nach; die Würze war hier noch lehmig, während sie bei den übrigen bereits sich geklärt hatte; die Würze hielt hier auch keine Decke.

Mit einem Teil der Hefenernte der 1. Versuchsreihe wurde noch je ein Liter Asparagin-Rohrzuckerlösung mit 100 g Rohrzucker, 2,5 g Asparagin und 20 ccm Nährsalzlösung (enthält pro Liter 50 g saures phosphorsaures Kali, 17 g krystallisierte schwefelsaure Magnesia) in Gärung versetzt. Temperatur 15—17° C. Schwefelsäureverschluſs. Aus den Zahlen, welche bei den täglichen Wägungen erhalten wurden, greife ich hier einige heraus.

Gärflasche mit Hefe No.	Kohlensäureverlust nach Stunden				
	48	250	312	408	552
11	3,3	25,8	43,1	47,5	49,9
4	5,6	29,9	45,1	48,7	50,0
1	7,7	28,7	42,9	47,0	49,2
5	3,4	24,7	40,5	46,4	48,9
10	4,5	27,2	44,0	48,4	49,9
6	5,8	24,8	38,4	44,7	47,6

Die nach 552 Stunden erhaltenen Kohlensäuremengen stimmen annähernd überein. Bemerkenswert ist, daſs die Gärungen von 5 und 6 am Ende starken Fruchtäthergeruch zeigten; damit steht offenbar die etwas geringere Kohlensäureproduktion im Zusammenhang. Ferner war auffällig im Gegensatz zu den Würzeversuchen, daſs die Schwefelsäure in den Verschlüssen hellfarbig blieb. Die Hefenernten sind leider damals nicht bestimmt worden.

Das Aussehen der Bodensätze entsprach ziemlich demjenigen, die in der Würzegärung erhalten worden waren. 1 und 6 ergaben fast gar keine Kräusen; die Decke war nach 72 Stunden ganz kahl. 11, 10 und 4 zeigten noch nach 13 Tagen kräusenartige Inseln auf der Oberfläche. 5 zeigte nach 72 Stunden die merkwürdige Erscheinung, daſs, nachdem die Kräusen schon zurückgegangen waren, die Decke, obwohl eine mit bloſsem Auge erkennbare Hautschicht nicht vorhanden war, an vielen Stellen Kohlensäurebläschen unterhalb festhielt. Die Gärflasche mit Hefe 6 wurde am frühesten klar. 1, 6 und 5 zeigten nach 13 Tagen feine staubartige bis häutige Wandbeläge oberhalb der Bodenschicht. Nach 23 Tagen zeigte 6 einen bläulich opalisierenden Schleier, der durch abgestorbene Zellen verursacht wurde.

Die zweite gröſsere Versuchsreihe, die Gärungen 1—25 (exkl. Nr. 13 und Nr. 15) umfassend, wurde am 18. Januar 1890 begonnen. Es sollten möglichst viel und verschiedene Hefen auf ihr Verhalten in der gleichen Würze geprüft werden.

Die angewandte Würze zeigte 11,95° Bllg; sie enthielt pro hl 77,09 g Stickstoff. Jede Gärflasche erhielt 650 ccm Würze. Gärtemperatur ca. 15° R. Schwefelsäureverschluſs. Die Gärdauer schwankte zwischen 11 und 14 Tagen.

Die Biere wurden auf Vergärung, Säuremenge und Stickstoffgehalt untersucht, die Hefenernte als gepreſste Hefe bestimmt. Von diesen Ernten wurden je 2 g zur Vergärung einer ca.

29prozentigen Maltoselösung verwendet. Es sollte hier ermittelt werden, welche Hefen in kürzerer Zeit die höchsten Alkoholausbeuten geben, entsprechend den Verhältnissen der Brennereien, welche mit konzentrierten Maischen arbeiten und die Gärungen nach einigen Tagen beendet haben müssen. Die Ausbeuten an Alkohol würden jedenfalls etwas höher ausgefallen sein, wenn die Rohmaltose, die angewandt wurde, nicht etwas säurehaltig gewesen wäre. Die Maltoselösung war so gewählt, dafs 16 Vol.-Proz. Alkohol hätten gebildet werden können. Die Hefen dieser Versuchsreihe entstammen sämtlich Brauereibetrieben.

Allgemeiner Befund der Gärversuche 1—25, mit Ausschlufs von 4, 13 und 15.

Die Hefenernten differieren bei 650 ccm 11,95 %iger Würze zwischen 4,3 und 12 g. Die Gärversuche sind nach den Hefenernten geordnet. Die obergärigen Hefen stehen in der Hefenerzeugung obenan. Die nicht zu den Kulturhefen gehörigen Rassen geben im allgemeinen die geringsten Hefenernten. Die untergärigen Hefen verteilen sich ziemlich gleichmäfsig in der Reihe. In den Gärungserscheinungen boten sich ziemlich scharfe Unterschiede zwischen diesen drei Gruppen. Die untergärigen Hefen zeichneten sich aus durch kompakte Bodensätze, schnellere Klärung und Kräusen mit wenig Hefengehalt. Die wilden Hefen gaben dünne Bodensätze, schlechte Klärung, schwächere Kräusen. Die obergärigen gaben stark wellig geformte Bodensätze, hefige Kräusen; Klärung langsamer als bei den Unterhefen.

Bezüglich der Hefenproduktion, Vergärung, Säurebildung und Stickstoffentnahme bestehen keine festen Beziehungen. Allgemein läfst sich aber zusammenfassen: Wo die Hefenernte gröfser ist, ist auch mehr Extrakt und Stickstoff herausgenommen, auch mehr Säure gebildet und die konzentrierte Maltoselösung stärker vergoren. Von dieser allgemeinen Regel giebt es aber bemerkenswerte Ausnahmen. In Nr. 1 und 24 gleiche Vergärung, gleiche Säuerung, dabei ca. 5 g Unterschied in der Hefenernte; in Nr. 16 und 17 eine annähernd gleiche mittlere Hefenernte, gleiche Stickstoffentnahme, fast gleiche Säuremenge und Alkoholzahl, aber sehr grofse Differenz in der Vergärung; in Nr. 17 und 23 fast gleiche Säure-, Stickstoff-, Alkoholzahl und Hefenernte, aber bedeutende Differenz in der Extraktentnahme. Etwas auffällig ist der ziemlich gleichmäfsige, wellenförmige Gang der Säurezahlen.

Erwähnenswert ist noch, dafs aufser den Hefen 6 und 15 (beide aus Saaz stammend) die niedrig vergärenden Rassen keine normalen Betriebs-

hefen darstellen. Nr. 46 ist aus einem trüben Bier, Nr. 26, 27 und 28 sind aus „Breslauer Kretschmerbier" isoliert worden.

Hefe 19 ist die sog. „Frohberghefe".

Erläuterung zu den Gärversuchen Nr. 4, 13, 15 und 26—35.

Von bekannten Hefen finden wir unter Nr. 115 und 119 den Sacch. Pastorianus I und Sacch. ellipsoideus II vor.

Hefe Nr. 15, aus Saaz stammend und mit Nr. 6 jedenfalls identisch; Nr. 51, Saccharomyces cratericus, die sogenannte „Schornsteinhefe", eine aus bitterem Bier isolierte Hefe, die aufser der leichten Sporenbildung (vergl. Seite 182) noch durch Bildung hoher kraterförmiger Erhebungen der Bodensatzhefe ausgezeichnet ist, und Nr. 6 (Hefe Saaz).

Die Würze war bei dieser Versuchsreihe die nämliche wie bei der vorigen. Die Gärungen wurden derart eingeleitet, dafs zunächst je 150 ccm Würze in kleinen Pasteurschen Kölbchen geimpft wurden mit kleinen Hefemengen, die von den Reagenzglaskulturen entnommen worden waren. Diese 150 ccm Würze wurden im Stadium der Angärung dann zugegeben zu je 500 ccm Würze und die Gesamtmenge unter Schwefelsäureverschluſs gehalten. Temperatur 20—21° C. Gärdauer 10 Tage.

Erläuterung zu den Gärversuchen 36—45 und 67—99.

Es sollten Hefen in 2 Versuchsreihen, die ein ganzes Jahr auseinanderliegen, in derselben Würze verglichen werden.

Diejenigen Nummern, bei denen wir die horizontalen Linien seitlich von kurzen schrägen Strichen begrenzt sehen, gehören der Versuchsreihe von Februar 1891 an, die übrigen der vom Februar 1890.

Hier ist wieder dieselbe Würze angewandt wie bei 1—35. Statt 650 ccm sind aber 1350 ccm für jede Gärflasche verwendet worden.

Die Gärung war zunächst in 150 ccm Würze in kleinen Pasteurkolben angesetzt worden. Im Stadium der Angärung wurde diese in Gärflaschen übergegossen, die vorher mit 1200 ccm von derselben Würze beschickt worden waren.

In der 1890er Versuchsreihe wurden Schwefelsäureverschlüsse angewendet, in der 1891er einfache Wattepfropfen. Die Würze wird durch die einjährige Konservierung in einem grofsen Würzecylinder offenbar etwas reicher an Sauerstoff geworden sein; zudem war sie auch noch klarer geworden. Durch die Wattepfropfen war überdies auch während der Gärung, namentlich nach der Hauptgärung, Luftzufuhr möglich.

Am meisten Interesse bieten die Nummern 67—90 dar, da hier diejenigen Hefen, welche bei beiden Versuchsreihen verwendet wurden, zusammengestellt sind.

Im allgemeinen läfst sich hier folgendes feststellen: Die meisten Hefen haben in der zweiten Versuchsreihe mit derselben

Würze bei Gegenwart von mehr Sauerstoff weiter vergoren und mehr Hefe erzeugt.

Besonders auffällig tritt die höhere Vergärung und stärkere Hefenbildung bei den Hefen 77 und 135 auf. Einige Hefen sind in der Vergärung nicht oder nur sehr wenig weiter gegangen, haben aber gröfsere Hefenernten ergeben (Hefe 139, 128, 29). Endlich haben zwei Hefen, Nr. 80 und 33, bei Luftzutritt weniger weit vergoren und weniger Hefe erzeugt, als bei Luftabschlufs.

Als neue schwach vergärende Hefe fällt uns noch Nr. 130, eine Brennereihefe, auf; sie hat sich überdies in beiden Versuchsreihen fast völlig gleich verhalten.

Von Interesse ist es auch, die Schnelligkeit, mit welcher die Stadien der Angärung und der Hauptgärung durchlaufen werden, zu verfolgen.

In einfacher Weise läfst sich die Gärungsenergie dadurch zum Ausdruck bringen, dafs man die Anzahl der Tage bestimmt, nach welchen eine gewisse Menge Kohlensäure, in unseren Gärungen z. B. 36 g, produziert ist.

In einigen Gärversuchen wurde selbst bis zuletzt diese Zahl nicht erreicht.

Trotzdem war doch der Gärverlauf in Nr. 38 ein sehr schneller und schon nach 8 Tagen die Kohensäureentwicklung beendet.

Erreicht wurde 36 g Kohlensäure aus der 1890er Versuchsreihe innerhalb				aus der 1890er Versuchsreihe innerhalb			
7	Tagen	in	No. 37,	6	Tagen	in	No. 88,
8	„	„	„ 77, 79,	9	„	„	„ 45, 72, 78, 82, 86, 90, 97, 99,
10	„	„	„ 39, 40, 73,	15	„	„	in den übrigen.
11	„	„	„ 42,				
12	„	„	„ 41, 69, 71, 75, 85,				
15	„	„	„ 87,				

Auffällig war das Verhalten der Hefe 29 in Nr. 87 und 88. In der ersten Gärung vergingen 15 Tage, in der zweiten nur 6 Tage, bis 36 g Kohlensäure entwickelt worden waren; bei Hefe 33 in Nr. 89 und 90 sind 8 resp. 9 Tage dazu nötig gewesen; in der sauerstoffreicheren Würze also eine schnellere Gärung. Aber auch das Umgekehrte ist der Fall bei Hefe 80 in Nr. 75 und 76, wo 11 Tage gegen 15 stehen, und selbst nach letzteren waren noch nicht 36 g Kohlensäure entwickelt.

Aus den Versuchen geht wohl das eine unzweifelhaft hervor, dafs nur mit Vorsicht allgemeine Regeln über das Verhalten der Hefen aufgestellt werden dürfen, da wiederholte Gärversuche mit derselben Hefe bei gleichem Nährsubstrat verschiedene Befunde geben können.

Auch in der Praxis macht man mit ein und derselben Hefe oft die verschiedensten Erfahrungen, und es ist nicht immer die Zusammensetzung der Würze daran schuld, wenn die Vergärung einmal zu hoch, das andere Mal zu niedrig ist, wenn einmal Bruch vorhanden, das andere Mal nicht, wenn die Hefenernte einmal sehr grofs, das andere Mal gering

ist. Andere im Betrieb geführte Hefen können zur selben Zeit ganz normale Erscheinungen geben, wie sie auch unsere „degenerierte“ Hefe früher gezeigt hat.

Bei der einen Hefe funktioniert der Verdauungsapparat eben normal, während bei der anderen das eine oder andere Enzym, sei es das Invertin oder die Glukase, oder die Zymase wegen Indisposition des Hefeplasmas nicht in genügender Menge produziert wird. Die Hefe ist wie jeder andere Organismus eben auch hinfällig und Krankheiten ausgesetzt. Leider ist die Hefenpathologie noch in ein völliges Dunkel gehüllt.

Sehr lehrreich sind Versuche von Lange über die Veränderlichkeit der Zymasewirkung in derselben Hefe, je nachdem sie bei verschiedenen Temperaturen aufbewahrt wird oder je nachdem sie in einem früheren oder späteren Gärstadium aus der Würze herausgenommen wird. (Vergl. S. 223.)

Das schwierige Problem bei vergleichenden Gärversuchen ist, wie schon erwähnt, die Beschaffung von Aussaathefen, die im gleichen physiologischen Zustand sich befinden. Wenn man die Gärungen mikroskopisch verfolgt, wird man an dem Aussehen der Zellen schon erkennen, was dies ungefähr bedeutet. Manche Hefen sind überaus hinfällig und geben frühzeitig eine Unmenge absterbender Zellen, andere sind kaum tot zu machen (z. B. die Spalthefe Schizosaccharomyces Pombe).

In sämtlichen Versuchen der beiden Tabellen verlief die Gärung bei ungefähr Zimmertemperatur und wurde bei den täglichen Wägungen jede stärkere Erschütterung ängstlich vermieden.

Wären die Versuche bei 25° C. angestellt worden und wären die nur mit Wattepfropf versehenen Gärflaschen täglich vor jeder Wägung tüchtig umgeschüttelt worden, dann wäre jedenfalls die Endvergärung gleichmäfsiger ausgefallen, namentlich hätten einzelne, sehr niedrig vergärende Hefen, wie Hefe 26, 27, 28, 77, 131, weiter vergoren.

Die Hefen 46 und 130 sind in der Vergärung auch bei höheren Temperaturen mit Saaz übereinstimmend gefunden worden.

§ 32. Die Ernährungsbedingungen der Hefen.

Bei der Kultur von Hefen auf Würze oder Würzegelatine werden wir nicht selten beobachten, dafs es auch Hefen giebt, welche trotz geringer oder gänzlich fehlender Gärungserscheinungen doch fortgesetzt wachsen und dicke Bodensätze oder Kahmhäute bilden. Wir müssen also scharf unterscheiden zwischen Gärvermögen und Assimilationsvermögen. Man kann z. B. rote Hefen fast die ganze Würze verzehren sehen, ohne eine Gasentwicklung zu bemerken. Hier wird der in der Würze vorhandene Zucker entweder als solcher assimiliert oder die aus ihm durch Sauerstoffübertragung durch die Hefe ent-

standenen Verbrennungsprodukte. Einen genaueren Einblick in diese Verhältnisse gewinnen wir mit Hilfe der

Auxanographischen Methode von Beijerinck.

Wir werden dieselben an einem bestimmten Beispiel, das Beijerinck selbst genauer beschrieben, am besten kennen lernen. Es verschlägt nichts, dass es sich hierbei nicht gerade um eine Hefe, sondern um eine Bakterie, den Bacillus perlibratus, handelt.

Es wurden zwei Gelatinen hergestellt, eine Glukosephosphat- und eine Ammonphosphatgelatine, und nach Impfung mit dem Bacillus damit Platten gegossen. Die Gelatine war durch mehrtägiges Auswachsen mit destilliertem Wasser von Salzen und löslichen Stoffen, bis auf etwas Eiweifs und Pepton, befreit worden. Es wurde von ihr eine 7 %ige Lösung bereitet, der 0,025 % Dinatriumphosphat zugegeben wurde. Diese Gelatine wurde in dem einen Falle mit 1 % Glukose, in dem anderen mit 0,5 % Ammonsulfat versetzt. Die Impfung dieser Gelatine vor dem Ausgiefsen zur Platte geschah durch eine Reinkultur des Bacillus, die von Fleischwasserpeptongelatine stammte, und die Aussaat wurde so gewählt, dafs jede Platte über Millionen Keime erhielt. Die Platte bleibt trotzdem durchsichtig, da die Bakterien nicht eher wachsen, bis plastisches Nährmaterial hinzugefügt wird.

Die Glukosephosphatplatte dient nun zur Feststellung der assimilierbaren Stickstoffquellen, die Ammonphosphatplatte zum Studium der aufnehmbaren Kohlenstoffverbindungen. Die zu untersuchenden Körper werden entweder gelöst als Tropfen oder als trockenes Pulver auf die Platten gelegt; sie diffundieren dann in kreisförmigen Feldern durch die Gelatine. Sind sie assimilierbar, dann beginnen die Bakterien zu wachsen, und dabei werden die Diffussionsfelder weifslich trübe, schliefslich ganz undurchsichtig. Auf der Glukoseplatte erwiesen sich sämtliche untersuchten Stickstoffquellen als reaktionsfähig, jedoch in verschiedenem Mafse. Chlorammon, Ammonsulfat, -phosphat, -oxalat, -tartrat, -acetat, -citrat gaben alle sehr kräftige Auxanogramme; dann folgt die Reihe der Nitrate, schliefslich der Nitrite; letztere sind nur in sehr grofser Verdünnung verwendbar. Das Auxanogramm nimmt hier Ringgestalt an, da in der Mitte die zu hohe Konzentration das Wachstum der Bakterien verhindert. Sticht man von einem nicht mehr wachsenden Felde etwas Gelatine aus und untersucht diese mit einem der vielen empfindlichen Nitritreaktiven, so ergiebt sich keine Nitritreaktion mehr, ein Beweis, dafs dieser Körper assimiliert ist. Pepton und Harnstoff ergaben erst nach Wochen ein überzeugendes Resultat, während ein solches bei den anderen Körpern schon nach 24 Stunden oder ein paar Tagen erhalten wurde.

Die Ammonsulfatplatte ergab sehr scharfe Resultate mit Glukose, Lävulose, Galaktose und Glycerin; Maltose, Dextrin, Rohrzucker und Milchzucker waren vollständig inaktiv. Mannit ergab erst nach sehr langer Dauer eine schwache Reaktion.

Gelatinephosphatplatten ohne Beimischung von Glukose und Ammonsulfat gaben ein besonders kräftiges Wachstum des Bacillus perlibratus bei Zugabe von Asparagin, ebenso von Ammonmalat und -acetat. Diese Körper sind also Stickstoff- und Kohlenstoffquellen gleichzeitig. Ammontartrat liefert nur Stickstoff. Andere Bakterien, wie Bacillus cyanogenus, assimilieren die Weinsäure begierig. Verfasser bemerkt, dafs Weinsäure für die Diagnose vieler Bakterien sehr nützlich ist.

Bei den verschiedenartigen Hefen ist, abgesehen von den mineralischen Nährsalzen, für ein kräftiges Wachstum immer eine gesonderte Kohlenstoff- und Stickstoffquelle zugleich erforderlich.

Um die Zuckerarten auf die Assimilationsfähigkeit zu studieren, mufs man eine Nährsalzgelatine mit Pepton, Asparagin oder Ammoniaksalzen herstellen und auf dieser nach dem Vermischen mit der Hefe die Lösungen der Zuckerarten in Tropfen auftragen.

Beijerinck hat nach dem physiologischen Verhalten folgende Einteilung der Hefen gegeben. Er unterscheidet:

α) Glukomyces.	Beispiel:	S. apiculatus u. S. Mycoderma.
β) Maltomyces.	„	S. cerevisiae.
γ) Laktomyces.	„	S. Kefyr.
δ) Raffinomyces.	„	S. fragrans (so genannt wegen der Bildung eines lieblichen Esters bei der Glukosegärung).
ε) Dextrinomyces.	„	S. Pastorianus Rees.
ζ) Polysaccharomyces.	„	S. acetaethylicus.

Saccharomyces-Arten	Maltose	Glukose	Saccharose	Laktose	Dextrin	Glycerin
S. ellipsoideus (Wein- oder Prefshefe) . . .	+	+	+	−	−	−
S. cerevisiae (Bierhefe) .	+	+	+i	−	−	−
S. Pastorianus Rees . .	+	+	+	−	+	−
S. fragrans	−	+	+	−	−	−
S. Kefyr u. S. gricola .	−	+	+i	+	−	−
Einzelne S.-Arten . . .	−	+	−	−	−	+
S. acetaethylicus (Essigätherhefe)	+	+	+i	−	−	+

+ bedeutet, dafs der Körper assimiliert wird.
i bedeutet, dafs Invertierung stattfindet.

Da die Gärungsfunktion, das heifst in diesem Falle die Spaltung in Alkohol und Kohlensäure ohne einen adäquaten Sauerstoffverbrauch, bei manchen Arten nur unter bestimmten Umständen bemerkbar ist, so ist auf sie in der obigen Tabelle keine Rücksicht genommen.

In ähnlicher Weise wie von Glukosehefen u. s. w. könnte man von Nitrat-, Ammon-, Amid- und Peptonhefen reden, je nachdem die eine oder andere dieser Verbindungen für die Ernährung einer bestimmten Hefenrasse besonders verwendbar ist. Die in der obigen Tabelle aufgeführte Essigätherhefe ist nach Beijerinck das einzige Beispiel einer Hefe, welche Nitrate assimilieren kann. Nitrithefen sind noch nicht bekannt. Die Kahmhefen können Ammonsalze verarbeiten, während die Brennerei- und Brauereihefen, sowie Weinhefen mehr auf Amide und Peptone angewiesen sind.

Die Amide und Peptone stammen aus dem Pflanzeneiweifs (Albumin) resp. von den aus diesem durch Säure- oder Enzymwirkung (Peptase) hervorgegangenen Albumosen ab; sie sind im Gegensatz zu letzteren beiden leicht diffusibel und daher von der Hefenzelle nutzbar zu machen. Bei gleichzeitiger Anwesenheit von Amiden und Peptonen werden die Amide von den Hefen am schnellsten verbraucht. Das Peptase genannte Enzym führt die Peptone schliefslich auch in Amide über, ebenso thun dies Säuren. Die Amide geben dünnflüssige Lösungen, Peptone mehr dickflüssige, Albumosen und Albumine stark schäumende.

Während der Preſshefenfabrikant, der nach dem alten Verfahren die Hefe durch Abschöpfen von der treberhaltigen Maische gewinnt, eine etwas schäumende Maische bevorzugt, weil bei dieser ihm der Bottich nicht abpfeift, sondern die Hefe an der Oberfläche gehalten wird, will der Dickmaischbrenner nichts von einer Schaumgärung wissen. Die Bottiche laufen hierbei über und geben Verluste.

Auch für das neuere Lufthefeverfahren mit treberfreien Würzen in der Preſshefenfabrikation ist eine stark schäumende Würze weniger vorteilhaft. Dagegen wünscht der Bierbrauer, daſs sein Bier den Schaum halten und seine Bottiche volle, schöne Kräusen haben. Sein Bier darf aber nicht sauer werden, sonst verliert es gleichzeitig seine Schaumhaltigkeit. —

Wie man beim Mälzen und beim Sudprozeſs zu verfahren hat, um nicht zu stark die Eiweifsverbindungen abzubauen, hat besonders Windisch eingehend verfolgt und dementsprechende Vorschläge gemacht. Es darf hier aber auch daran erinnert werden, daſs auch die Hefen während der Gärung oder im Lagerfaſs die in ihnen enthaltenen Plasmakörper abbauen, durch Selbstverdauung verändern können. Bei der sogenannten Hefespundung nicht zu weit vergorener Biere ist gerade

eine erhöhte Schaumhaltigkeit derselben durchgehends wahrgenommen worden.

Die Frage nach der Ernährung der Hefe ist besonders wichtig für die Preſshefenfabrikation; handelt es sich doch hier darum, möglichst viel Hefe aus dem gegebenen Rohmaterial zu ernten. Herr Dr. Kusserow war so freundlich, mir folgende Notizen zu geben.

Verhalten einer Hefe bei

a) Amidernährung: Die reife Hefe zeigt runde, isolierte Zellen mit ziemlich viel Vakuolen, setzt sich sehr langsam ab, liegt aber sehr fest und ist weiſs. Sie ist gut preſsbar, als Preſshefe bröcklig, fühlt sich trocken an, entbehrt des Klebstoffes.

Triebkraft: erste halbe Stunde: sehr schwach,
zweite „ „ gering,
dritte „ „ hoch,
von da ab: konstant so bleibend.

b) Peptonernährung: Die reife Hefe hat mehr ovale, vakuolenarme Zellen; dieselben zu Flocken zusammentretend, schnell sich absetzend. Wegen ihrer Schmierigkeit weniger gut preſsbar; die Preſshefe fühlt sich klebrig an.

Farbe: gelblich, dunkel.

Triebkraft: erste halbe Stunde: sehr stark,
zweite „ „ noch stark,
dritte „ „ sehr mäſsig.

Bei Amidernährung bevorzugt die Hefe phosphorsaure Alkalien, bei Peptonernährung phosphorsaure Erdalkalien. Die Rasse II für Brennereien enthält relativ viel phosphorsaures Alkali, ist frei von Eisen und giebt ca. 23 % Trockensubstanz. Die für Preſshefefabriken gezüchtete Rasse ist relativ reich an phosphorsaureu Erdalkalien und giebt ca. 27 % Trockensubstanz.

Hier möge noch hingewiesen werden auf die Versuche von Delbrück-Hanow, welche darauf ausgingen, zu bestimmen, welche Anteile der in der gleichen Würze vorhandenen Stickstoffverbindungen von den verschiedenen Hefen (z. B. Saaz und Frohberg) herausgeholt werden können. Saaz und Frohberg unterscheiden sich auch in dieser Richtung. (Vergl. auch Tabelle 1 Nr. 1—25, speciell auch Nr. 5, 14 und 20.)

Bestimmung der Gärkraft und Triebkraft der Hefe.

Sie dient nicht nur dazu, verschiedene Hefen untereinander zu vergleichen, sondern auch, um für ein und dieselbe Hefe einen Anhaltspunkt für ihren jeweiligen physiologischen Zustand zu gewinnen.

Man bestimmt bei den hierfür ausgearbeiteten Methoden die entwickelte Kohlensäure entweder nach Gewicht (Methode Meifsl) oder

nach dem Volumen (Hayduck, Kusserow). Erstere Methode wird da besonders anzuwenden sein, wo man nur kleinere Hefenmengen zur Verfügung hat. Letztere beiden dienen hauptsächlich dazu, die aus der Praxis kommende Hefe zu untersuchen.

Die Meifslsche Methode bestimmt das Gewicht der Kohlensäure, welche 1 g Hefe innerhalb 6 Stunden bei 30° C. entwickelt in einer Lösung von 4,5 g einer Mischung von 400 g Kandiszucker, 25 g Ammonphosphat und 25 g Kaliumphosphat in 50 ccm gewöhnlichen Wassers. Meifsl nennt jene Hefe eine Normalhefe, welche unter diesen Bedingungen 1,75 g Kohlensäure liefert. Die Gärungsenergie derselben wird gleich 100 gesetzt.

Abb. 105. Apparat zur Bestimmung der Gärkraft der Hefe nach Hayduck.

Aus den nachfolgenden Abbildungen wird ohne weiteres ersichtlich sein, wie man das Resultat feststellt. Bei dem Hayduckschen Apparat kommt es darauf an, dafs man vor dem Ablesen das rechts befindliche Gefäfs so weit nach unten schiebt, bis die Niveaus in gleicher Höhe liegen. Bei dem Kusserowschen liest man das durch die Kohlensäure verdrängte und in einem graduierten Standcylinder aufgefangene Wasser ohne weiteres ab.

Für beide Apparate[1]) gilt die Vorschrift: 40 g reiner, ungeblauter Zucker wird in warmem Wasser gelöst, bis zu 400 ccm aufgefüllt und auf 30° C. temperiert. Mit einem Teil der Zuckerlösung verrührt man 10 g gepreſster Hefe in einer Porzellanschale und gieſst nach ordentlichem Nachspülen aus letzterer zurück. Die Gärflasche wird in ein Wasserbad von 30° C. gebracht, der Kugelaufsatz aufgesetzt und während 1 Stunde die Kohlensäure durch den Gummischlauch entweichen gelassen.

[1]) Zu beziehen von der Glasbläserei des Instituts für Gärungszwecke, Berlin N, Seestrafse 65.

In der nun folgenden halben Stunde bleibt dieser verschlossen, und die sich ansammelnde Kohlensäure treibt das Wasser nach dem Stand-

Abb. 106. Apparat zur Bestimmung der Gärkraft der Hefe nach Kusserow.

cylinder. Die erhaltene Zahl entspricht der Triebkraft der Hefe nach Hayduck.

Eine gute Preſshefe (für die Bäcker) soll, nach dieser Methode untersucht, mindestens eine Triebkraft von 250 haben.

Kusserow hält es für zweckmäſsig, auch die Angärung in der 1. und 2. halben Stunde festzustellen.

Eine gute Preſshefe für Backzwecke soll in der 1. halben Stunde mindestens 50 ccm, in der 2. halben Stunde 150 ccm Kohlensäure entwickeln.

Wie sehr sich die Triebkraft in derselben Hefe ändern kann, haben die interessanten Versuche von Lange ergeben. (Siehe Brennereizeitung 1901 Seite 2412.)

Die Rasse V für Preſshefenfabriken mit einer Triebkraft von 230 in der 3. halben Stunde gab nach einer 40tägigen Lagerung eine solche von 340.

Bei 5—6° R. gelagert stieg sie nach 17 Tagen auf 330,
„ 18—19° R. „ fiel „ „ 3 „ „ 162,
„ „ „ 5 „ „ 0,
„ 23° R. „ „ „ „ 3 „ „ 0.

Wurde die bei 18—19° R. 3 Tage gelagerte Hefe in niedere Temperaturen gebracht, so stieg nach 3 Tagen die Triebkraft von 162 auf 256.

Es ist darnach also für den Preſshefenfabrikanten und auch für den Bäcker wichtig, die Hefe nicht warm aufzubewahren, andererseits kann nach praktischen Erfahrungen eine sehr kalt gelagerte Hefe bei schneller Erwärmung vollständig versagen, während langsames Anwärmen nichts schadet.

Rasse II für Brennereien verhielt sich analog wie V, untergärige Bierhefe zeigt jedoch keine Steigerung der Triebkraft bei kalter Lagerung; bei wärmerer Lagerung schwindet die Zymase schon nach 2—3 Tagen vollständig. Aus diesem Grunde ist jedenfalls der Buchnersche Hefenpreſssaft oft unwirksam.

Hefe, unter Wasser aufbewahrt, nimmt nur wenig an Triebkraft zu.

Bei Hefe, die in zuckerreiche Vorderwürze gebracht und durch Alkohol am Sprossen verhindert wurde (bei 10%), steigerte sich die Triebkraft ums doppelte.

Besonders interessant ist das Verhalten unreifer Hefen aus dem Bottich.

	ccm Kohlensäure		
Die Anstellhefe hatte in der 1., 2., 3. halben Stunde	42	168	238
„ ausgeschleuderte Hefe bei 5,5° Ball.	220	410	490
„ „ „ „ 4,8° Ball.	204	366	430
„ fertige Hefe	8	166	248

Wurden die Proben bis zum nächsten Tag in den Eisraum gestellt, dann gingen die Zahlen noch höher.

In den Triebkraftbestimmungen mit Rohrzuckerlösung setzt sich die Wirkung aus der Zymase- und Invertinwirkung zusammen. Um die Zymasewirkung allein beurteilen zu können, müſsten Parallelversuche mit Traubenzuckerlösungen angestellt werden.

Hefen, wie Schizosacch. Octosporns, die kein Invertin enthalten, könnten in Rohrzucker überhaupt nicht auf Triebkraft untersucht werden.

Da sie Glukase enthält und Maltose vergärt, würden zum Vergleich sowohl Maltose- als Glukoselösungen sich eignen. Wenn so häufig der Buchnersche Hefepreſssaft versagt hat, kann die Schuld vielleicht auch dem leichten Verderben des Invertins in die Schuhe geschoben werden.

Jedenfalls ist bei allen Gärkraft- und Triebkraftbestimmungen daran festzuhalten, daſs hier ganz komplizierte Verhältnisse in Frage kommen.

Während man bisher immer nur die lebende Hefe auf ihre Gärkraft prüfte, wird man seit Buchners Studien über den Hefepreſssaft auch mit diesem resp. den daraus gewonnenen Präparaten ähnliche Bestimmungen machen.

Will hatte vor Buchner schon die Thatsache festgestellt, daſs jahrelang trocken aufbewahrte Hefe in Zuckerlösung Kohlensäureentwicklung verursacht, ohne daſs eine entsprechende Menge lebender und wachstumsfähiger Zellen vorhanden war.

Gut gewaschene und gepreſste frische Bierhefe in dünner Schicht ausgebreitet, 1—2 Tage an der Luft liegen gelassen und dann bei 37° C. getrocknet, dann weiter 6 Stunden lang auf 100° erhitzt, gab in 37 %iger Rohrzuckerlösung bei 37° C. nach 3 Stunden ein kräftiges Aufschäumen, das erst nach 10 Stunden aufhörte; war die Hefe 1 Stunde lang bei 140—145° C. erhitzt worden, dann war die Zymase vernichtet.

Über die Methode der Gewinnung des Preſssaftes macht Buchner folgende Angaben (Buchner, Berichte der deutsch. chemisch. Gesellsch. 1897, pag. 2668): Bei 50 Atmosphären Druck entwässerte frische Preſshefe (1 kg) wird mit Quarzsand (1 kg) und Kieselgur (100 g) gemischt und behufs vollständigen Mengens durch ein Sieb geschlagen. Die staubtrockene Masse kommt hierauf in Anteilen von 100 g in die Zerreibungsmaschine, die durch einen Gasmotor von 1 Pferdestärke getrieben wird, wobei das Pulver je nach dem Grade der Zerreibung allmählich feuchtes Ansehen und teigartige Konsistenz annimmt und sich schlieſslich zu einem Klumpen zusammenballt. Bis hierher dauert die Operation für 1 kg Hefe etwa 2 Stunden. Nun wird die ganze Menge auf einmal in ein doppeltes Preſstuch eingeschlagen in die hydraulische Presse gegeben; den Druck steigert man allmählich auf 500 Atmosphären und erhält nach 2 Stunden ca. 320 ccm Preſssaft. Der Preſskuchen wird nun zerstoſsen, mit etwa 140 ccm Wasser in der Reibschale durchgearbeitet und abermals 2 Stunden einem Drucke bis zu 500 Atmosphären ausgesetzt; es werden noch 180 ccm Preſssaft gewonnen. Die Gesamtausbeute beträgt aus 1 kg Hefe somit 500 ccm Saft. Letzterer wird durch ein gewöhnliches Faltenfilter direkt filtriert, ev. nochmals zurückgegossen, in einem durch Eiswasser gekühlten Gefäſs aufgesammelt und schlieſslich vollständig gemischt.

In dem nach dem zweiten Auspressen rückständigen Preſskuchen waren 4 % unverletzte Zellen, 13 % Übergangsstadien, 26 % alterierte Zellen und 57 % leere Zellhäute.

Beim Eintragen des Preſssaftes in 12 Raumteile absoluten Alkohols entsteht eine Fällung, die, vom Alkohol im Vakuum befreit, noch Gärwirkung besitzt. Im Vakuum bei 36° C. zum Trocknen gebrachter und in luftleer gemachte Röhrchen eingeschmolzener Preſssaft zeigte nach 5 Monaten noch Gärwirkung. Gegenwart von peptischen Enzymen bewirkt ein Ausbleiben von Gärungserscheinungen. 3 Gläschen mit je 5 ccm Preſssaft wurden in Eis verpackt, nachdem vorher noch bei dem einem 0,1 g Trypsin, bei einem anderen 0,1 g Papayotin zugefügt war. Das dritte blieb ohne Zusatz. Nach einstündigem Liegen wurden in jedem 2 g gepulverter Rohrzucker zur Lösung gebracht.

Das dritte Gläschen geriet in starke Gärung, bei den beiden Gläschen aber unterblieb jede Gärungserscheinung.

Da wir wissen, daſs in den Hefen selbst Trypsin sich bildet, wird es auch erklärlich, weshalb in länger gestandener oder gar alter Hefe (Trypsin ist ja in absterbenden Zellen besonders reichhaltig vorhanden) Zymase nicht mehr nachweisbar ist.

§ 33. Die genauere Charakteristik einer in Reinkultur erhaltenen Bakterie.

Für das Studium der **Bakterien** gelten ziemlich die nämlichen Gesichtspunkte, wie für die Hefen. Manche Bakterien geben in den Tröpfchenkulturen ganz eigenartige Gruppierungen und Wachstumsbilder; im allgemeinen aber bietet für die Charakteristik der Bakterien die Kultur in Gelatine die meisten Vorteile. Namentlich in Fleischsaftgelatine zeigen sich deutliche Unterschiede. Sie produzieren nicht selten Farbstoffe (blau, rot, gelb, orange, grün) oder fluoreszierende Körper, sie verflüssigen zum Teil sehr schnell Gelatine. In Flüssigkeiten sind sie manchmal schwer zu specifizieren. Manche wachsen an der Luft gar nicht oder nur spärlich, andere verlangen wieder die Gegenwart von Luft. Erstere kann man durch gleichzeitige Aussaat von luftbedürftigen Zellen zum Wachsen bringen. So hat Beijerinck durch Aussaat von Kahmhefe zu luftscheuen (anaëroben) Bakterien das Wachstum der letzteren erreicht. Der Zutritt neuer Luftmengen wurde dabei selbstverständlich verhindert. Die Beziehungen der verschiedenen Bakterien zu dem Sauerstoff lassen sich aus den sogenannten Atmungsfiguren erkennen. Diese Methode, die ebenfalls von Beijerinck erfunden ist, besteht darin, daſs man einen mit reichlicher Bakterienimpfung versehenen Tropfen der Nährlösung zwischen Objektträger und Deckglas bringt und letzteres mit Hilfe eines kleinen Stückchens Platindraht etwas

anhebt, damit die Flüssigkeitsschicht nicht zu dünn wird. Je nachdem nun die betreffende Bakterie luftliebend oder luftscheu ist, werden sich ihre Zellen in dichteren Haufen nahe am Rande oder nahe in der Mitte des Tropfens versammeln. Die dabei entstehenden Figuren nennt Beijerinck Atmungsfiguren. Manche Bakterien erzeugen ziemlich starke Säuerungen. Ihr Nachweis gelingt mitunter sehr gut mit Hilfe des Beijerinckschen Kreidenährbodens. Der Gelatine wird bei der Bereitung fein geschlemmte Kreide (kohlensaurer Kalk) beigemischt. Da, wo in der Platten- oder Rollkultur ein völlig durchsichtiger, klarer Hof entsteht, sind säureproduzierende Organismen zur Entwicklung gekommen. Der Kalk der Kreide ist an der betreffenden Stelle in ein lösliches Kalksalz übergeführt. Bei Anwendung einer Hefewasser-Glukosegelatine (20 g Hefe in 100 ccm Leitungswasser gekocht, 8 g Gelatine [oder $^3/_4$ g Agar] und 5—10 g Glukose) und beim Übergiefsen der Gelatineoberfläche mit Wasser, in welchem ein Tropfen gärender Maische verteilt war, läfst sich nach mehreren Tagen etwa folgendes feststellen:

Der durchsichtige Hof, welcher sich um die Kolonien der Milchsäurebakterien bildet, enthält milchsauren Kalk, der als lösliches Salz die Gelatine durchtränkt. Hefekolonien erzeugen einen kleinen durchsichtigen Hof infolge Ausscheidens von Bernsteinsäure. Die Essigsäurebakterien bilden Glukonsäure aus dem Zucker, die ebenfalls ein lösliches Kalksalz giebt. Der durchsichtige Hof wächst aber rapid, wenn Hefekolonien in der Nähe sind, die Alkohol für die Essigsäurebildung liefern.

Vertauscht man die Glukose mit anderen Zuckerarten, wie Milchzucker, Rohrzucker, Maltose, Lävulose, Mannit u. s. w., so kann man weitere Verschiedenheiten in dem Verhalten der einzelnen Bakterienarten leicht ermitteln. Die in der Industrie vorkommenden Milchsäurestäbchen reagieren durchaus nicht alle in gleicher Weise auf die verschiedenen Zuckerarten.

Bakterien, welche alkalische Reaktionen hervorrufen, können, wenn ihre Kolonien in der Nähe von Säurebildnern wachsen, die Lösung der Kreide verhindern. Daher findet man mitunter polyedrisch begrenzte Diffusionsfelder, statt kreisrunder. Statt Kreide lassen sich auch noch andere kohlensaure Verbindungen, wie das Strontium, Magnesium, Zink u. s. w., anwenden und stellen sich hierbei oft eigenartige Beziehungen zu dem einen oder andern dieser Metalle und den Säurebakterien heraus. So ertragen z. B. die Essigbakterien die Gegenwart des Zinkkarbonats ganz gut, während die Milchsäurebakterien ihr Wachstum merklich einschränken, bei sonst ungeschwächter Säureproduktion.

Sehr wichtig für den Vergleich einer Bakterienart mit anderen ist die genaue Feststellung der Gröfsenverhältnisse. Da Messungen im

Mikroskop häufig gar nicht genau auszuführen sind, sucht man die Photographie zu Hilfe zu nehmen.

Biologische Betriebskontrolle.

§ 34. Untersuchung der Luft auf ihren Keimgehalt.

Wir setzen mehrere sterile Luftcylinder ca. eine Stunde lang an verschiedenen Örtlichkeiten aus, den einen z. B. im Pferdestall, den andern auf dem Feld, den dritten auf der Malztenne, den vierten in der Nähe einer Schrotmühle, den fünften im Gärkeller, einen sechsten im Lagerkeller, den siebenten im Zimmer, in welchem wir die Kulturen

Abb. 107. Standcylinder für den Nachweis von Keimen in der Luft.

beobachten wollen. Wenn wir genügend Luftcylinder haben, so können wir an jeder Stelle zwei aufstellen und den einen mit Würze, den andern mit Fleischsaftgelatine beschicken. Die Wattepfropfen der Luftcylinder sind während der Ausstellung in der zugehörigen Papierkappe so aufzubewahren, dafs letztere die innere Seite des Pfropfens umschliefst Abb. 107 c. Nachdem man während einer Stunde der Luft Gelegenheit gegeben hat, ihre Keime in die Glascylinder abzusetzen, stopft man die letzteren wieder zu und bezeichnet die Etiketten. Die eingefangenen Keime bleiben im Luftcylinder noch lange Zeit lebensfähig; noch nach Jahren können einige von ihnen ihre Keimkraft behalten haben. Es ist daher auch nicht nötig, dafs man an Ort und Stelle, wo die Cylinder exponiert waren, sogleich Nährgelatine hinzufügt; man kann dies viel bequemer später im Laboratorium besorgen. Jeder Cylinder

bekommt den Inhalt eines Gelatineröhrchens (das gewöhnlich zu 1/3 mit Nährgelatine gefüllt ist) eingeschüttet. Die Gelatine darf nicht zu heifs sein; am besten verfährt man, wenn man die entsprechende Anzahl Gelatineröhrchen im Wasser von ca. 35 ° C. so lange stehen läfst, bis Verflüssigung der Gelatine eingetreten ist. Nach einigem Umschwenken des Cylinders erreicht man, dafs die an den Wandungen oder am Boden niedergefallenen Keime gleichmäfsig in der Gelatine verteilt sind. Das schnelle Erstarren der Gelatine bewirkt man durch Rollen des Cylinders auf einem Eisstück, in dem man vorher durch die Flamme oder durch ein eisernes Rohrstück eine entsprechend grofse Rinne ausgeschmolzen hat.

Vielfach hat man diese Methode etwas verändert angewendet, indem man schon vor dem Exponieren die Gelatine in dem Cylinder erstarren liefs. Dies ist aber nicht zu empfehlen, einmal weil die Gelatine zu sehr austrocknet, dann aber wegen der ungleichen Verteilung der Keime, da die meisten Keime am Boden und nur wenige auf den Wandflächen zur Entwicklung kommen würden.

Der Gelatinewandbelag mufs an den Wandungen gleichmäfsig dick sein; man wird dies leicht erreichen, wenn man den Cylinder dann, wenn die Gelatine anfängt schwer zu fliefsen, möglichst schnell rollt. Bei Mangel an Eis rolle man den Cylinder unter der Wasserleitung.

Anstatt mit den Glascylindern kann man auch in Petrischälchen die Keime aus der Luft einfangen. Um die Infektionsverhältnisse auf dem Kühlschiffe etwas nachzuahmen, empfiehlt es sich, den Boden des Schälchens mit sterilem Wasser in dünner Schicht zu bedecken, damit die eingefallenen Keime nicht wieder fortgeweht werden können, und nachher erst Gelatine damit zu vermischen. Bei zu langer Exposition ziehe man die Möglichkeit einer im Wasser inzwischen eingetretenen Vermehrung einzelner Keime in Betracht. Die Methode mit den Schälchen hat den Vorteil, dafs die Entwicklung der Kolonien besser der mikroskopischen Betrachtung zugänglich sind und etwaige Gelatine verflüssigende Kolonien an ihrem Entstehungsort verbleiben, während in den Glascylindern ein Herabfliefsen derselben eintritt.

Nehmen wir an, wir hätten auf dem Feld einen Cylinder aufgestellt und nachher mit Würzegelatine beschickt. Nach 4—5 Tagen zeigen sich schon deutliche Entwicklungen, besonders von Schimmelpilzen. Diese sind fast sämtlich leicht auseinanderzuhalten. So läfst sich das Penicillium glaucum (der grüne Pinselschimmel) durch sein regelmäfsig nach allen Seiten ausstrahlendes Mycel und seine in konzentrischen Zonen auftretenden Fruchtträger (Conidienträger) mit den anfänglich weifs, später bläulich-grün bis grün gefärbten Sporen leicht erkennen; ebenso das so häufig auftretende Cladosporium. Letzteres bildet auf der ganzen Oberfläche seines Mycels eine olivgrüne Sporenmasse; das Mycelium nimmt auf der Unterseite eine schwarze Färbung an. Ein

anderer, auf Äckern nicht seltener Pilz, das Epicoccum purpurascens, bildet ein purpurrotes Mycel, das auf Würzegelatine allerdings nicht zur Sporenbildung kommt, wohl aber auf Pflaumendekoktgelatine. Die Lufthyphen sind anfangs zumeist ungefärbt und bilden eine reinweifse, wollige Schicht, durch die man den purpurroten Untergrund nicht hindurchschimmern sieht. Die Mucorarten sind ebenfalls durch ihre charakteristischen Fruktifikationen leicht kenntlich: der Mucor Mucedo durch seine langen dünnen Sporangienträger und seine unscheinbaren Köpfchen (Sporangien), der Mucor stolonifer durch seine schwarzen Köpfchen auf kurzen, aus einem Punkte gespreizt ausstrahlenden Sporangienträgern und die zahlreiche Bildung von Absenkern (Stolonen), durch die er, ähnlich wie die Erdbeerpflanze, sich überall wieder festwurzelt; der Mucor racemosus durch seine mäusegrauen Sporangien, die auf verhältnismäfsig kurzen Stielen sitzen. Das Oidium lactis wird durch sein gradlinig ausstrahlendes, beinahe seidenartig glänzendes Mycel auffällig; eine andre Oidiumart, Oidium lupuli, durch ihre herrlich orangegelben Sporen, die aus dem Zerfall der stark wuchernden Lufthyphen hervorgehen. Diesen Organismus findet man öfter im Hopfenstaub.

Was die Hefen- und Bakterienkolonien anlangt, die gleichzeitig mit den Schimmelpilzen zum Vorschein gekommen sind, so sei hier gleich bemerkt, dafs bei ihnen weniger scharfe Unterscheidungsmerkmale vorkommen. In der Gröfse gehen sie selten über die eines Stecknadelkopfes hinaus. Die Hefekolonien erscheinen mit Ausnahme der roten Hefen ungefärbt, als weifse, kompakte, scharf abgerundete oder etwas strahlige Punkte. Unter den Bakterien kommen Färbungsunterschiede wieder mehr zur Geltung. Die Kolonien sind zumeist noch kleiner als die Hefekolonien, erscheinen aber in der Regel nicht so kompakt, sondern mehr schleimig, wäfsrig. In Fleischsaftgelatine wachsen die Bakterienkolonien viel üppiger als auf Würzegelatine; viele schimmern bei durchfallendem Licht in den Farben des Regenbogens, besonders in blau. Einzelne Wasserbakterien scheiden Stoffe in die Gelatine aus, die letztere fluorescieren machen, so die beiden Arten des Bacterium fluorescens, von denen die eine Gelatine verflüssigt, die andre nicht. Die schnelle Verflüssigung der Gelatine macht manchmal ein auf Wochen hinaus beabsichtigtes Beobachten der Kultur unmöglich, indem dann alles von den Wandungen abgeschmolzen ist und am Boden liegt. Hierbei sind natürlich die Kolonien aufgelöst worden, so dafs eine Zählung nicht mehr vorgenommen werden kann. Nach der Verflüssigung der Fleischsaftgelatine pflegt auch bald ein fauliger Geruch sich einzustellen.

Überall da, wo wir nicht schon dem Aussehen nach die Kolonien charakterisieren können, müssen wir zur mikroskopischen Unter-

suchung schreiten. Besonders langwierig und umständlich würde die mikroskopische Untersuchung sich gestalten, wollten wir für jede auszustechende Kolonie ein besonderes Deckgläschen und einen Objektträger in Gebrauch nehmen. Hier verfahren wir zweckmäfsig folgendermafsen. Wir bringen auf den Objektträger einen kleinen Wassertropfen, so, dafs beim Darauflegen des Deckgläschens das Wasser in nicht zu dicker Schicht steht und nicht über den Rand herauskommt. Wir streifen nun nacheinander 4—5 Kolonien an je einer Seite des Deckgläschens ab und schieben dieses so weit vor, bis ein Teil jeder einzelnen Kolonie darunter zu liegen kommt. Indem man dieses Verfahren auf jeder Seite des Deckgläschens wiederholt, kann man bei 16—20 Kolonien mit einem Deckgläschen auskommen. Bevor eine neue Seite belegt wird, mufs die vorhergehende natürlich durchmikroskopiert sein.

Wollen wir die Art des Wachstums und der Vermehrung der einzelnen Arten studieren, dann müssen wir mit den Kolonien noch Kulturen ansetzen. Wir bereiten uns eine Anzahl hohler Objektträger so vor, dafs wir sie zunächst flambieren, auf den Rand der Höhlung dann mit Hilfe eines Pinsels einen Vaselinring auftragen und darauf ein ebenfalls flambiertes Deckgläschen legen. Die Unterseite dieses betupfen wir dann mit einer sterilen Schreib- oder Zeichenfeder, die vorher in sterile Würze oder eine andere geeignete Nährlösung getaucht worden war. Wir können 10—20 kleiner Tröpfchen bequem auftragen. (Vergl. Abb. 109 unten.) Um bei dem wiederholten Abnehmen des Deckgläschens ein Eintrocknen der Tröpfchen zu verhindern, ist es zweckmäfsig, den ganzen Objektträger kalt zu stellen oder die Kultur selbst in einem kalten Raum anzusetzen. In jedes derselben kann man eine von der Gelatine abgenommene Kolonie resp. einen kleinen Teil derselben einimpfen. Manchmal wird vorzuziehen sein, mit der Feder die Nährlösung in Streifen, vielleicht 5—6 auf ein Deckgläschen, aufzutragen. Wenn wir das Impfmaterial nicht in der ganzen Länge des Streifens verteilen, sondern es nur an das eine Ende bringen, so haben wir eine günstige Gelegenheit, die Schnelligkeit des Wachstums bis zum anderen Ende zu verfolgen.

Das Ausstechen der einzelnen Kolonien ist bei zu dichter Lagerung derselben sehr beschwerlich. Andererseits ist aber hier eine schnellere Orientierung über die vorhandenen Arten möglich, als wenn die Kolonien sehr verstreut liegen. Wir kratzen eine gröfsere Fläche von dem Gelatinebelag mit dem Platindraht aus dem Luftcylinder heraus und bringen ihn in die Höhlung eines angewärmten hohlen Objektträgers. Die Gelatine schmilzt und nun verrühren wir tüchtig mit dem Platindraht, so dafs alle Kolonien sich zerteilen. Dann nehmen wir eine oder mehrere Durchschnittsproben unter das Mikroskop. Eine besondere Aufmerksamkeit haben wir den nur winzig ausgebildeten Kolonien in

der Gelatine zu schenken, da gerade sie schädliche Organismen enthalten können. Da sie beim Schmelzen der Gelatine und bei nachfolgendem Verrühren manchmal gar nicht zum Auseinandergehen gebracht werden können, und infolgedessen vereinzelte Zellindividuen davon in der Durchschnittsprobe nicht vertreten sind, ist es angebracht, solche Stellen in der Gelatine, die kleine Kolonien besonders zahlreich enthalten, besonders auszuheben und zwischen Deckglas und flachem Objektträger zu quetschen. Hier kann man bei genauem Zusehen schon mit bloßem Auge erkennen, ob die kleinen Kolonien noch ganz geblieben oder zerdrückt worden sind. An Stelle der kleinen Pünktchen sieht man kleine, flächenförmig ausgebreitete Trübungen. Stellt man das Mikroskop darauf ein, so findet man fast immer Bilder, in denen Einzelindividuen deutlich erkennbar sind. Wollen wir ein solches Präparat längere Zeit oder wenigstens für einige Stunden oder Tage vor dem Eintrocknen schützen, dann ziehen wir rings um das Deckgläschen mit einem Pinsel einen dünnen Vaselinring. Haben wir die Absicht, solche kleine Kolonien auch weiter zu züchten, dann müssen wir sie mit der umliegenden Gelatine, soweit dieselbe von anderen Kolonien frei ist, ausheben und das Ganze dann in ein andres Gelatineröhrchen übertragen. Jetzt erst versuchen wir durch Anwärmen der Gelatine die Kolonie zu zerteilen; gelingt dies nicht, dann müssen wir eben abwarten, bis die Kolonie im neuen Röhrchen größer geworden ist. Statt in Gelatineröhrchen übertrage man eine zweite Kolonie auf ein steriles Deckgläschen, bringe durch vorsichtiges Erwärmen über einer Flamme das Gelatineklümpchen, in dem sie eingebettet liegt, zum Schmelzen und breite mit der ausgeglühten Spitze einer Platinnadel den Tropfen etwas in der Fläche aus, damit später, wenn wir das Deckgläschen auf einem hohlen Objektträger mittelst Vaselin befestigt haben, uns jede Stelle des Tropfens selbst für starke Systeme des Mikroskops zugänglich ist. Durch Anfertigung des letzten Präparates sind wir in den Stand gesetzt, nunmehr das Wachstum der Kolonie genauer verfolgen zu können, selbst dann, wenn letzteres ein sehr langsames und spärliches ist. In dem Gelatineröhrchen bliebe in solchem Falle die Kolonie für die nächste Zeit, oder, falls ein Wachstum nicht mehr eintritt, für immer unseren Augen verborgen.

§ 35. Die Untersuchung einer Betriebswürze auf ihren Keimgehalt.

Wir können hier die Plattenkultur anwenden, oder, wenn wir ohne Gelatine arbeiten wollen, die Tropfenkultur. Wir wollen letztere hier genauer schildern. Zunächst müssen wir uns eine genügende Anzahl Petrischälchen sterilisieren. Am besten geschieht dies mit Hilfe einer Blechbüchse (Abb. 69 und 70, S. 131), die wir mitsamt den Schälchen

in einem Trockenschrank 2 Stunden lang auf einer Temperatur von 150—170° C. halten.

Ferner bedürfen wir steriler Gefäfse zur Entnahme der Proben. Hierzu wählen wir uns eine gröfere Anzahl mit Wattepfropf versehener sterilisierter Gläschen aus. Diese werden mit Etiketten versehen und bei der Probeentnahme im Betrieb genau bezeichnet. Die Probeentnahme geschieht am zweckmäfsigsten an folgenden Stellen: 1. am Würzezulauf oder -Ablauf zum resp. vom Kühlschiff oder Sammelbottich, 2. oberhalb und unterhalb des Berieselungskühlers, 3. am Würzeschlauch, der in den Gärbottich mündet, 4. im Gärbottich. Vor allem hat man darnach zu trachten, dafs man überall die zuerst ankommende Würze auffängt, denn in diesen Proben werden wir die meisten Keime nachweisen können; zum Vergleich nehme man auch Proben an denselben Stellen, nachdem die Würze schon längere Zeit geflossen ist. Im Gärbottich selbst schöpfe man eine Probe, nachdem eben der Boden bedeckt worden ist, und eine zweite kurz vor Zugabe der Hefe.

Wir dürften uns im allgemeinen auf die letztere Probe beschränken; finden wir die Keimzahl sehr gering, dann ist damit angezeigt, dafs genügende Sauberkeit in den Leitungswegen geherrscht hat.

Wie verarbeiten wir nun die einzelnen Proben? Wir füllen in ein gewöhnliches Reagenzgläschen einige ccm Wasser und verschliessen es oben mit einem durchbohrten Gummistopfen, in welchen eine graduierte Pipette, die etwas über 1 ccm aufnehmen kann, eingepafst ist (Abb. 108). Über einer kleinen Flamme (in der Praxis, wo oft kein Gas und auch kein Spiritusbrenner zur Verfügung steht, kann man sich mit dem Abbrennen eines kleinen mit Spiritus angefeuchteten Wattebausches behelfen) bringt man das Wasser zum Kochen und hält solange damit an, bis die Pipette ordentlich ausgedämpft ist. Nun wartet man einige Zeit, bis die Pipette etwas abgekühlt ist, und saugt alsdann die Würzeprobe in die Pipette ein. Nachdem wir den Würzestand abgelesen haben, beginnen wir mit dem Betupfen der Petrischalen. Bei einiger Übung werden die Tropfen ziemlich gleichmäfsig ausfallen. Wir können bequem 50 Tropfen auf jedes Schälchen bringen. Bei dem übergreifenden Schälchen dürfen die Tropfen nicht zu nah an den Rand gegeben werden. Wir lesen nun ab, wie viel Würze für die 100 Tropfen verbraucht sind. Mutmafsen wir eine stärkere Infektion in der Würze, resp. haben wir durch die mikroskopische Untersuchung schon einen Anhalt dafür gewonnen, dann müssen wir einen Teil der übrig gebliebenen Würze noch mit steriler Würze entsprechend stark vermischen und mit dem Gemisch eine zweite Tropfenkultur anstellen. Ist das erste Glasschalenpaar beschickt, dann wird die Pipette wieder durch Dampf wie vorhin sterilisiert und eine zweite Würzeprobe ebenso verarbeitet. Die sämtlichen Petrischalen werden dann mit je einem Gummiring luftdicht verschlossen bei Zimmertemperatur belassen.

Nach 2—3 Tagen sehen wir schon eine Entwicklung in einzelnen Tropfen beginnen.

Schon an dem Aussehen der Tropfen lernen wir mit einiger Sicherheit unterscheiden, ob die Vegetation von Hefen, Bakterien oder Schimmelpilzen gebildet ist. Einzelne Tropfen zeigen eine so gleichartige Trübung, dafs wir dieselben Organismen mutmafsen dürfen. Wollen wir uns flüchtig über diejenigen Formen, die überhaupt vorhanden sind, orientieren, dann benutze man dazu die obere Schale, deren Tropfen die Kolonien im tiefsten Punkt zusammengedrängt oder gar schon vermischt miteinander zeigen. Hier verrühren wir mit einem kurz zuvor gereinigten und flambierten Finger sämtliche Tropfen und

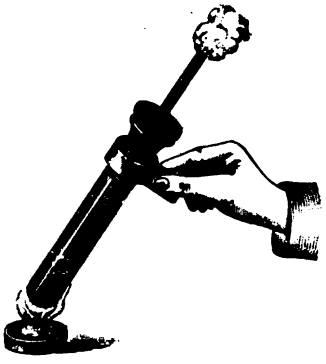


Abb. 108.
Ausdämpfen der Pipette zum Gebrauch bei der Tropfenkultur.

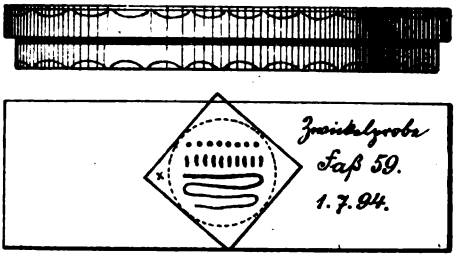


Abb. 109.
Obere Figur: Tropfenkultur in Petrischälchen.
Untere Figur: Tröpfchenkultur im hohlen Objektträger.

nehmen so eine Durchschnittsprobe, die wir nun mikroskopisch genau untersuchen.

Wollen wir ein Dauerpräparat von der Tropfenkultur haben, dann brauchen wir nur die Schalen so lange an der Luft offen stehen zu lassen, bis die Tropfen eingetrocknet sind. Später können wir sie jederzeit wieder aufweichen und selbst noch Überimpfung davon machen.

Den Keimgehalt berechnet man unter Zugrundelegung der in der unteren Schale vorgefundenen Vegetationsflecke auf den Kubikcentimeter der ursprünglichen unvermischten Würzeprobe.

Was die Erkennung der einzelnen Vegetationen anbelangt, so sei ganz allgemein bemerkt, dafs die Hefen meist dichte, weifse, runde Flecken bilden, die Bakterien dagegen mehr gleichmäfsig im Tropfen zerstreut sind und so einen zarten Schleier erzeugen. Die Schimmelpilze sind an ihren fädigen Ausläufern kenntlich. Bezüglich der Hefen interessiert es uns hauptsächlich zu wissen, ob der Vegetations-

fleck einer normalen oder wilden Hefenart angehört. Hier kommt uns bei der Entscheidung dieser Frage die Eigenschaft der normalen Unterhefe, sich grobflockig zusammenzuballen, besonders bei einer schwachen Bewegung der Flüssigkeit, sehr zu statten. Namentlich in den Tropfen der oberen Schale werden wir bei sachtem Hin- und Herbewegen diese Erscheinung gut beobachten können. Ein Teil der wilden Hefen bildet auch Flocken, wenngleich anderer Art; ein Verkleben mehrerer Flocken zu gröfseren kommt nicht vor. Die überwiegende Mehrzahl der wilden Hefen verteilen sich staubig im Tropfen. Rote Hefen machen sich schon durch die Farbe kenntlich, Kahmhefen durch die Bildung von Kahmhäuten.

In denjenigen Tropfen der oberen Schale, die ohne Entwicklung geblieben sind, bemerken wir eine geringe staubartige Anhäufung, die sich zur tiefsten Stelle herabgesenkt hat. Es sind das Ausscheidungen aus der Würze, bestehend aus Hopfenharzkügelchen, Zellhäuten, Eiweifsgerinnsel und zufälligen Beimengungen. Nicht selten finden sich daneben auch Bakterien-, Hefen- oder Pilzleichen, die, vom Malz oder vom Hopfen stammend, beim Läutern der Würze von den Trebern nicht zurückgehalten wurden. Einzelne Bakterienarten wachsen in den Tropfen nicht kräftig genug an, um sich dem bloſsen Auge sogleich zu verraten; es kommt dies bei Milchsäure- und Pediococcus- sowie Sarcina-Arten z. B. vor. Bei genauerem Zusehen merkt man aber auch hier deutlich den Unterschied von anderen Tropfen, die nicht infiziert sind.

Wäre uns die Aufgabe gestellt, auch eine

Untersuchung des Bieres auf Keimgehalt

nach derselben Methode vorzunehmen, so würden wir genau ebenso verfahren, wie mit der Würzeprobe. Je nachdem das Bier bei der mikroskopischen Untersuchung viel oder wenig Zellen zeigt, würden wir viel oder wenig Bier mit steriler Würze vermischen, ehe wir die Tropfen auftragen. Das Mischungsverhältnis muſs selbstverständlich genau bestimmt werden, wenn wir die Keimzahl im unvermischten Bier berechnen sollen. Ist das Bier sehr klar und arm an Zellen, dann können wir auch dasselbe ohne weiteres, ohne Vermischung mit Würze, auf die Schälchen tropfenweis geben. Die vorhandenen Zellen finden, namentlich bei der reichen Luftzufuhr, noch genügend Nahrung vor, um sich zu Kolonien zu vermehren. Allerdings werden die entstehenden Flecken nicht so groſs ausfallen, als wenn wir mit Würze vermischt hätten. Bemerkenswert ist noch der Umstand, daſs infolge des reichlichen Luftzutrittes viele Hefen in den vergorenen Tropfen Sporenbildung zeigen, namentlich die wilden Hefen und obergärige, leicht sporenbildende Hefen. Bei der mikroskopischen Durchmusterung der Tröpfchen achte man also hierauf.

Die eben besprochene Methode können wir auch zu

Wasseruntersuchungen

benutzen. Wir müssen uns hierbei sterile Würze vorrätig halten, die wir als Nährsubstanz dem Wasser hinzufügen. Das Mischungsverhältnis von Wasser und Würze ist von vornherein nicht genau anzugeben, das mufs erst ausgeprobt werden. Bei anscheinend gutem Wasser gebe man 1 ccm auf 10 ccm Würze. Wir hantieren am zweckmäfsigsten so: Aus einem kleinen Würzekölbchen saugt man mit einer Pipette genau 10 ccm auf und gieſst den Rest Würze weg. Nun läfst man die 10 ccm Würze in das Gläschen zurückfliessen und fügt mit derselben Pipette, nachdem sie wiederholt mit dem zu untersuchenden Wasser ausgespült worden, 1 ccm davon zu. Dann saugt man die Mischung wiederholt in die Pipette und läfst wiederholt auslaufen. Nachdem so die Keime gleichmäfsig verteilt sein dürften, wird wieder aufgesaugt und mit dem Betupfen der Petrischalen begonnen. Die Zahl der Kubikcentimeter, die dazu gebraucht werden, notiert man sich. Von Vorteil ist es, vor dem Betupfen die Mischung kalt zu stellen, damit die Tropfen dann nicht so schnell verdunsten. Gesetzt, dafs 100 Tropfen 1 ccm ausmachten und 50 Kolonien zur Entwicklung kämen, dann wären im Kubikcentimeter Wasser 11 mal so viel Keime, also 550 enthalten gewesen. Je mehr Wasser zu der Würze hinzugefügt wird, desto empfindlicher werden die Tropfen für eine Infektion, da jetzt die antiseptische Wirkung des Hopfens weniger sich geltend macht. Wir bekommen, wenn wir zu gleichen Teilen z. B. die Mischung herstellen, oft Keime zur Entwicklung, die in der unverdünnten Würze sich gar nicht vermehren würden. Durch stärkere Konzentration der Würze könnte man die Verdünnung durch das Wasser so ausgleichen, dafs nach dem Vermischen die gewöhnliche Konzentration da ist; es werden dann die Befunde etwas mehr der Wirklichkeit entsprechen.

Zur Wasseruntersuchung können noch andere Verfahren in Anwendung gebracht werden, so die Kochsche Gelatine-Plattenkultur mit Fleischsaft- und Würzegelatine, so die Hansensche Methode und endlich die Wichmannsche Variation der letzteren.

Zur Plattenkultur werden wir zweckmäfsig sowohl Fleischsaft- als Würzegelatine anwenden. Die Fleischsaftgelatine wird eine bedeutend gröfsere Anzahl Keime zum Auswachsen bringen, als die Würzegelatine; in Anbetracht dessen ist es zweckmäfsig, bei ihr mit verschiedenen Wassermengen zu arbeiten. Drei Fleischsaftgelatineröhrchen vermische man mit 1, $^1/_4$ resp. $^1/_{20}$ ccm Wasser; zur Würzegelatineplattenkultur dürfte 1 Röhrchen genügen und eine Zugabe von 1 ccm Wasser. Die Gelatinemischung wird nunmehr entweder auf Glasplatten oder in Petrischälchen oder in Luftcylindern zum Erstarren gebracht.

Die Hansensche Methode besteht darin, dafs eine Reihe mit steriler Würze oder sterilem Bier gefüllter Kölbchen mit je 1 Tropfen Wasser geimpft werden, resp. wenn das Wasser zu keimhaltig, mit einer entsprechenden Verdünnung desselben mit keimfreier Würze.

Wichmann schlägt vor, bei der Hansenschen Kölbchenkultur 20 Kölbchen mit steriler Würze und 20 Kölbchen mit sterilem Bier mit je einem Tropfen (= $^1/_{40}$ ccm) Wasser zu versetzen. Vier weitere Kölbchen jeder Art werden mit $^1/_4$, $^1/_2$, $^2/_3$ und 1 ccm Wasser beschickt (Wichmannsche Methode); das 25. Kölbchen dient als Kontrollkölbchen oder zur Verdünnung des Wassers, falls die Pipette zu grofse Tropfen liefern sollte. Wir wollen nun eine Wasseruntersuchung nach der Hansenschen Methode ausführen. Wir versehen uns mit der nötigen Anzahl von Kölbchen, füllen mit Würze resp. Bier und sterilisieren im Dampftopf bei strömendem Dampf, resp. bei Bier zweckmäfsiger im Autoklaven bei gespanntem Dampf. Die geimpften Kölbchen beobachten wir im Laufe der nächsten Tage. Hier kann es nun vorkommen, dafs uns alle Kölbchen eine Infektion zeigen; es kann bei verschiedenen Wasserproben auch der Fall eintreten, dafs das eine Mal schon am dritten Tag überall Trübung eintritt, das andere Mal erst nach längerer Zeit. Das Resultat drücken wir in Prozenten aus und sagen, von 100 Wassertropfen haben so und so viel eine Trübung in Würze oder Bier hervorgebracht. Die Zeit, innerhalb welcher die Trübung eintritt, ist hier weiter nicht berücksichtigt. Dies will Wichmann aber bei seiner Methode zum Ausdruck bringen. Wir wollen nun auch diese Wichmannsche Methode probieren. Wir impfen je 4 Kölbchen mit Würze oder Bier mit 1, $^1/_2$, $^2/_3$ und $^1/_4$ ccm Wasser und bezeichnen die Kölbchen mit 1, 2, 3, 4; der Tag, an welchem Trübung eintritt, wird für jedes Kölbchen notiert. Wir nehmen an, am ersten Tage hätten sich schon alle Würzekölbchen getrübt. In diesem Fall setzt Wichmann das Zerstörungsvermögen des Wassers für Würze = 100. Die Verdünnungsstufe der Würze ist 1, 2, 3, 4. Um zur Zahl 100 zu gelangen, mufs ein Faktor zu diesen Zahlen gesucht werden, so dafs die Summe der Produkte = 100 ist. Dieser Faktor für den ersten Tag ist 10. Also $1 \times 10 + 2 \times 10 + 3 \times 10 + 4 \times 10 = 100$. Für den Fall, dafs erst am zweiten Tag Trübung in der Würze eintritt, setzt Wichmann den Faktor 8, für den dritten Tag den Faktor 6 und für den vierten 4, für den fünften 2. Wenn die einzelnen Kölbchen an verschiedenen Tagen sich trüben, so wird für jedes einzelne das Produkt aus der Verdünnungsstufe und dem Faktor für den betreffenden Tag gebildet.

Berechnungsbeispiel:

Würzekölbchen Nr.	trübte sich nach	die Faktoren für diese Tage mal Verdünnungsstufe:
1 (mit 1 ccm Wasser	2 Tagen	$8 \times 1 = 8$
2 „ 0,75 „ „	3 „	$6 \times 2 = 12$
3 „ 0,5 „ „	3 „	$6 \times 3 = 18$
4 „ 0,25 „ „	4 „	$4 \times 4 = 16$

Das betr. Wasser hat für Würze mithin das Zerstörungsvermögen: 54.

Für Bier, das schwieriger zur Trübung kommt, ist das Zerstörungsvermögen des Wassers = 100 gesetzt, wenn am dritten Tage sämtliche Kölbchen sich trüben. Die Faktoren für die einzelnen Tage sind um 1,67 gröfser angenommen, als die Würzefaktoren für die entsprechenden Tage.

Berechnungsbeispiel:

Bierkölbchen Nr.	trübte sich nach	Bierfaktor für den betreffenden Tag mal Verdünnungsstufe.
1 (mit 1 ccm Wasser)	3 Tagen	$(6 \times 1{,}67) \times 1 = 10{,}0$
2 „ 0,75 „ „	4 „	$(4 \times 1{,}67) \times 2 = 13{,}4$
3 „ 0,5 „ „	5 „	$(2 \times 1{,}67) \times 3 = 9{,}9$
4 „ 0,25 „ „	5 „	$(2 \times 1{,}67) \times 4 = 13{,}2$

Zerstörungsvermögen des Wassers für Bier = 47.

§ 36. Speciellere Aufgaben bei der Luftanalyse.

Wo Gärungsbetriebe mit einer bestimmten Kalamität zu kämpfen haben, da spitzt sich die Frage dahin zu: Wo kommen die gerade vorliegenden schlimmen Gesellen her und welches Nährmedium, welche Methode mufs angewendet werden, um ihre Herkunft mit Sicherheit nachweisen zu können? Will ich feststellen, ob eine eingetretene Essigsäurebildung mit der biologischen Beschaffenheit der Luft zusammenhängt, dann werde ich nicht Fleischsaftgelatine in den Luftcylinder eingiefsen, sondern eine Mischung von gehopfter Würzegelatine mit einigen Tausend Zellen einer reingezüchteten Brauerei- und Brennereihefe. Ich werde ferner einen Teil der erstarrten Gelatine mit einer ziemlich dickflüssigen sterilisierten Mischung von Calcar carbonatum praecipitatum puriss. oder Schlämmkreide und Wasser übergiefsen, um später die säurebildenden Kolonien sofort herauszuerkennen. Die an der Gelatineoberfläche haften gebliebenen Kalk- resp. Kreidepartikelchen werden an diesen Stellen aufgelöst durch die gebildete Essigsäure, und es entstehen durchsichtige Diffusionsfelder. Auch Milchsäurebakterien werden sich in ungehopfter Würzegelatine so nachweisen lassen, nur werden sie kleinere Kolonien und auch kleinere Diffusionsfelder geben. — Wollen wir Sarcinen nachweisen, dann wählen wir eine Fleischsaft- oder Hefewassergelatine (Schönfeld). Wollen wir Hefen oder Schimmelpilze nachweisen, dann greifen wir zur Würzegelatine oder zur Würze und Bier selbst.

Mit der Wahl des Nährmediums ist aber noch nicht alles gethan. Manche Mikroben sind in ihrem Wachstum sehr durch den Sauerstoff der Luft beeinflufsbar. So z. B. werden wir ein besseres Wachstum der Sarcina- und Milchsäurebakterien erhalten, wenn wir sie in einer dicken Gelatineschicht wachsen lassen, oder wenn wir den Cylinder zum Teil mit Kohlensäure (Eintauchen des Luftcylinders in die Kohlensäureschicht eines Gärbottichs) oder Wasserstoff oder Stickstoff füllen. Statt des Wattepfropfes wäre dann ein luftdichter Verschlufs zu wählen.

Einen hinreichenden Luftabschlufs erhält man auch, wenn man den Luftcylinder mit dem Inhalt zweier Gelatineröhrchen ausspült und die ganze Gelatine in einem der beiden Röhrchen sammelt, so dafs bis zum Wattepfropf beinahe die Gelatine reicht.

In der Tiefe des Gläschens bilden sich dann die Kolonien weit kräftiger aus, als oben an der Luft. Zur Untersuchung der Kolonien mufs man später das Röhrchen vorsichtig erwärmen und den Inhalt in ein grofses Uhrschälchen giefsen, in welchem sich die fast unversehrten Kolonien am Grunde sammeln, von wo sie sich leicht herausfischen lassen.

Statt mit Nährgelatine kann man den Luftcylinder in der gleichen Weise mit Würze ausspülen und letztere in einem Würzefläschchen sammeln. Wenn man eine Spur Hefe zugiebt, so bekommt man Verhältnisse, die der Praxis am meisten entsprechen. Man verzichtet hier allerdings auf quantitative Resultate und begnügt sich mit dem qualitativen Nachweis bestimmter Mikroben, z. B. der Sarcina.

Es giebt keine Methode der Luftuntersuchung, die allen Anforderungen entspricht; auch die Hansensche Methode der Verwendung von Würze und Bier läfst, abgesehen dafs sie etwas umständlich ist, manches zu wünschen übrig. Wenn ihr als besonderer Vorzug angerechnet wird, dafs auch geschwächte Keime leichter in Würze angehen als in Gelatine, so ist dazu zu bemerken, dafs alte Hefekulturen mit sehr geschwächten Zellen bei der Überimpfung in Würze und Würzegelatine in letzterer bei weitem schneller und kräftiger sich entwickeln, als in ersterer. Die Anwendung der Tröpfchenkultur hat häufig genug die Erfahrung gebracht, dafs auch Würze für geschwächte Zellen nicht immer genügt. Solche Zellen bilden vielleicht darin noch einige Zellen, sterben dann aber insgesamt ab. Mit allzu geschwächten Zellen werden wir in der Praxis nicht zu rechnen brauchen, diese fallen doch der stürmischen Hefengärung zum Opfer. Anderenfalls wäre die Anwendung von Reinhefe bei der Mostgärung beinahe überflüssig, bei der ja die auf den Beeren gesessenen Keime in grofser Zahl anwesend sind, wenn auch zum Teil in sehr geschwächtem Zustande.

Es wird uns ferner nicht gelingen, selbst mit einer grofsen Aussaat eines stark Sarcina-haltigen Bieres sterile Würze damit trübe zu machen,

ebensowenig wie es gelingt, von einer an Flufssäure gewöhnten Hefe in flufssäurefreien Medien eine kräftige Entwicklung und Gärung zu erhalten. Umgekehrt werden Sarcinakeime, die nicht durch den Aufenthalt in gärender Würze allmählich an den Biergenufs gewöhnt sind, plötzlich das sterile Bier, das bei der Hansenschen Methode Anwendung findet, angreifen. Es ist bisher in der Litteratur noch nicht der Nachweis erbracht, dafs bei Hansens Methode in den Kölbchen mit dem sterilen Bier Sarcina gefunden wurde. Da die Sarcina aber durchaus nicht so selten vorkommt (zeigt doch die Kochsche Nährgelatine uns dieselbe allenthalben), so wird man zu deutlich auf die Unzulänglichkeit der Methode hingewiesen, und es ändert an der Sache nichts, dafs allzu eifrige Schüler und Anhänger Hansens diese Methode als die zuverlässigste und wissenschaftlichste, die es giebt, anzupreisen nicht müde werden.

Am sichersten wird man gehen, wenn man sich nicht an eine vermeintliche Universalmethode klammert, sondern je nach dem gerade vorliegenden Bedürfnis die eine oder andere der gegebenen Methoden gleichzeitig anwendet. Es entspricht auch einer gewissen Vorsicht, wenn man einer Methode, welche den geringsten Ausschlag giebt, nicht allzu grofses Vertrauen schenkt. — Aufser durch die Wahl des Nährmediums unterscheiden sich die Luftuntersuchungsmethoden noch durch die Art des Auffangens der Keime.

Koch benutzte zuerst einen gläsernen Standcylinder, auf dessen Grunde ein Schälchen mit Nährgelatine sich befand. Die Keime, welche in den Cylinder geraten, fallen senkrecht nieder und entwickeln sich auf der Oberfläche ihre Kolonien.

Hesse saugt durch ein langes, innen mit erstarrter Gelatine bekleidetes Glasrohr langsam Luft hindurch. Die Bakterien und Hefen senken sich am schnellsten, die Schimmelpilze erst gegen das hintere Ende der Röhre zu Boden. Das Ausstechen der Kolonien hat hier grofse Schwierigkeiten. Verfasser dieses Buches bedient sich, wie Koch, eines Standgefäfses, giebt jedoch erst nach dem Einfallen der Keime Nährgelatine zu und läfst diese nach gehöriger Mischung mit jenen an der Glaswandung erstarren. (Esmarchs Rollkultur.)

Miquel saugt die Luft durch steriles Wasser und untersucht dann letzteres auf den Gehalt an eingefangenen Keimen.

Hansen bediente sich späterhin der gleichen Methode. Seine ersten Luftanalysen führte er mit grofsen Glaskolben aus, die während des Kochens der eingefüllten Würze an dem dünnen Hals zugeschmolzen wurden. An der zu untersuchenden Örtlichkeit wurde die zugeschmolzene Spitze abgebrochen und der heftig in das Vakuum hineinstürzenden Luft Eintritt verschafft. Die in der Würze angehenden Vegetationen wurden

später untersucht. Statt durch Flüssigkeit filtrierte man die Luft noch durch Glassplitter, Zucker und Sand (Frankland, Miquel, Petri).

Prüfung von Luftfiltern.

In der Praxis wird die Luftfiltration im grofsen Mafsstab ausgeführt. Die Luftfilter von Möller, Pappritz u. a. schaffen pro Stunde 1000 Kubikmeter und mehr. Hier wäre es kleinlich, wollte man auf Grund der Analyse von wenig Litern Luft ein Urteil über das betr. Filter fällen. Von besonderer Bedeutung ist hier die Art der Probenentnahme; am richtigsten wird es sein, wenn die Luft dieselbe Geschwindigkeit, die sie in dem Zuleitungsrohr hat, auch bei dem Eintritt in den Apparat, in dem sie entkeimt werden soll, beibehält. Ist dies nicht der Fall, dann

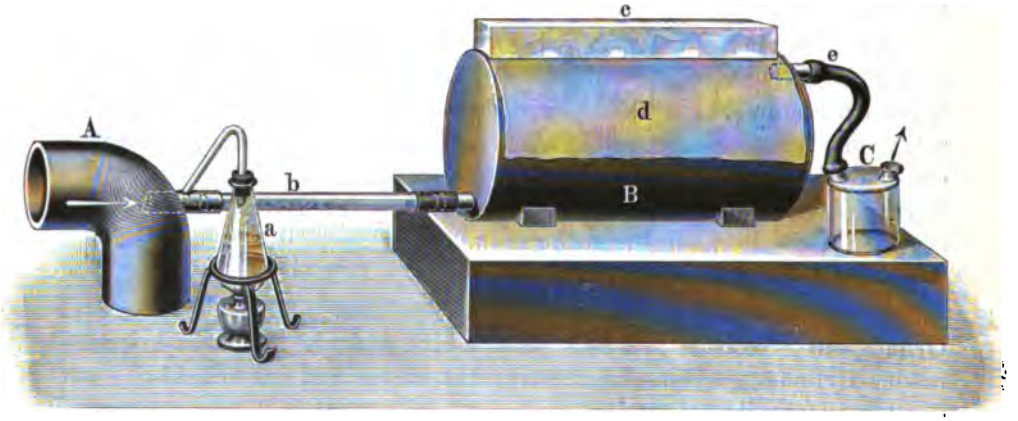


Abb. 110. Apparat zur Prüfung filtrierter Luft (nach Lindner).

staut sich die Luft vor dem Rohr, das sie in den Apparat leiten soll, und bildet hier ein elastisches Polster, welches die heranfliegenden Keime seitlich ablenkt, so dafs nur ein Bruchteil ihrer wirklich vorhandenen Zahl einfangen wird. Das Luftentnahmerohr mufs überdies in die Achse des grofsen Luftrohrs, wo die Geschwindigkeit am gröfsten ist, eingestellt werden. Verfasser benutzt zu solchen Untersuchungen den Cylinder seines kleinen Reinzuchtapparates, jedoch ohne das Lüftungsrohr (Abb. 110), der ca. 80 Liter Inhalt hat. An dem einen Stutzen wird mittelst eines kurzen Schlauchstückes ein Glasrohr (b) von gleicher Weite und einer Länge von ca. 1 m angebracht. Das Ende des Glasrohres trägt noch ein kurzes Schlauchstück. Dieses wird in eine entsprechend weite Öffnung am Luftleitungsrohr A, das vom Möllerschen Filter kommt, eingeführt und kurz vor Beginn des Versuches dicht am Glasrohr mit einem glühend gemachten Nagel durchbohrt; durch dieses kleine Loch wird die Spitze eines Glasröhrchens geführt, welches mit einem Kochkolben a ver-

bunden ist. Hier wird während des ganzen Versuchs Wasser im Kochen erhalten. Der Dampf strömt aus der feinen Spitze in das Glasrohr (Abb. 111), verteilt sich in der mit grofser Geschwindigkeit — ca. 2—2,5 m pro Sekunde — einströmenden Luft und befeuchtet deren Keime. Dafs vor dem Versuch Glasrohr, Cylinder, Stutzen und Schläuche sterilisiert sein müssen, versteht sich von selbst. Damit die durch die aufgenommene Feuchtigkeit schwer gewordenen Keime in dem Cylinder sich gut absetzen können, wird dieser mit Eis belegt oder in Schnee eingehüllt. Dadurch wird nicht nur die in der Luft ursprünglich vorhandene Feuchtigkeit, sondern auch der vom Dampf herstammende feine Nebel kondensiert. Gegen 500 ccm steriles Wasser waren schon vorher in den Cylinder gegeben worden, um am Schlufs des Versuches die Wandungen desselben gut abspülen zu können. Obwohl an der Eintritt- und Ausstelle des Apparates die Luft die gleiche Geschwindigkeit besitzt, verringert sich diese im Innern des Cylinders bedeutend, und vergehen ca. 2 Minuten, ehe die 80 Liter Luft erneuert sind. Zum Messen der

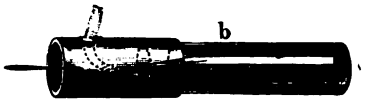


Abb. 111. Anordnung, um die Luft mit Wasserdampf zu mischen.

Abb. 112. Apparat zum Messen der Luftgeschwindigkeit (Anemometer).

Geschwindigkeit bedient man sich eines Anemometers (Abb. 112). Nach dem Durchleiten von 5—6000 Liter Luft, also ca. $2^1/_2$—3 Stunden, wird der Versuch beendet.

Der Cylinder wird gerollt, um die Wände abzuspülen und dann das ganze Wasser in eine gröfsere sterile Vorlage übergegossen. Nachdem 500 ccm Fleischsaftgelatine zugegeben und durchmischt worden, wird das Gefäfs sogleich in Eis gestellt, damit die Gelatine erstarrt; später wird dasselbe bei 15—17° C. hingestellt. Nach 8—10 Tagen haben sich in letzterer die einzelnen Keime zu Kolonien entwickelt. Man verflüssigt nun die Gelatine vorsichtig, läfst die Kolonien sich am Boden absetzen und gieſst in zwei grofse, flache Schalen um, in denen man die Kolonien bequem zählen und fischen kann. — Es empfiehlt sich, jedesmal zwei Versuche anzustellen, den einen an einem regnerischen Tage, an welchem die Aufsenluft keimfrei ist — hier erhält man ein Urteil darüber, ob die im Filter bereits angesammelten Keime durchgerissen werden — den andern an einem trockenen, staubigen Tage.

Hier einige Befunde, welche sich auf ein Möllersches Filter beziehen, welches $^1/_2$ Jahr fast ununterbrochen (mit Ausnahme der Nachtzeit) funktionierte mit 1000 cbm stündlicher Leistung. Auf 1000 Liter wurden gefunden: Dezember 2, Januar 20, Februar 10, März 100, April

2 Keime. Hält man dagegen, dafs in der Aufsenluft ca. 5 Keime pro Liter durchschnittlich anzutreffen sind, so mufs man die Leistung eines solchen Filters immerhin anerkennen. Unter den durchgerissenen Keimen haben sich aber gerade wieder die kleinsten Mikroben, z. B. Sarcinen, denen man aus dem Wege gehen wollte, erkennen lassen.

Einige Beispiele aus der Praxis.

Die Luftcylinder sind durchweg 1 Stunde ausgesetzt und dann mit Fleischsaftgelatine ausgerollt worden.

Brauerei N. Berlin. Februar 1888.

Die Wasserreserven auf den Malzböden offen und daher mit Malzstaub bedeckt. Schon die mikroskopische Untersuchung ergab die Anwesenheit von Pediococcen: Wasser aus dem Reservoir zu sterilisiertem Bier gegeben, machte dasselbe nach 3—4 Tage schon sarcinatrübe.

Am Kühlapparat I:	3	Schimmelpilze	1 gelbe Paketsarcina		
„ „ II:	3	„	vereinzelt Pediococcen,	30	Torula, rote Hefe
Gärkeller I:	3	„	1 gelbe Paketsarcina	1	Stäbchenbakterie
Lagerkeller I:	3	„	1 Pediococcus	3	„
„ VI:	1	„	1 gelbe Paketsarcina		

Brennerei N. Altmark. März 1889.

		Pediococcen	Schimmelpilze	Torula	Bakterien
Kühlschiff	Hofseite	20	7	3	3
	Strafsenseite	8	7	4	7
Gärkeller	I:	8	3	—	—
„	II:	ca. 100	5	3	7

Brauerei M. Schlesien. Mai 1888.

	Pediococcen	Schimmelpilze	Torula		
Strafse mit viel Viehverkehr ca.	40	20	40		
Garten in einiger Entfernung von der Strafse	20	10	20		
Hof nach dem Sprengen	1	5	3	1	Stäbchenbakterie
Kühlschiff	6	10	2	2	„
Stall	sehr viel	11			
Gärkeller	—	2	sehr viel	—	
Lagerkeller	1	12	einige	2	Paketsarcina, Megatherium
Taubenschlag, ca. 10000 bis 20000 Kolonien . .	sehr viel	wenig			andre Bakterien

Brauerei O. Provinz Sachsen. April 1888.

	Kühlschiff	Kühlapparat	Gärkeller	Lagerkeller
Torula	3	14	6	7
Normale Hefe . . .	4	—	—	—
Dematium pullulans	—	1	1	—
Pediococcus . . .	10	3	5	3
Schimmelpilze . . .	18	120	250	12

Brauerei P. Mecklenburg. 8. Juni und 25. Juli 1888.

	Kühlschiff (in der Nähe einer Senfmühle)	Sudhaus
Schimmelpilze	62 resp. 7	3 resp. 13
Pediococcen .	5 „ 8	7 „ 3
Torula . . .	4 „ 3	— —
Dematium . .	2	— —
Cladothrixart .	5 „ 1	— —
Bakterien . .	4 „ 10	1 —

§ 37. Die trübenden, nicht organisierten Bestandteile der Würzen und Biere.

Ehe wir zur mikroskopischen Untersuchung der in unseren Proben vorhandenen Vegetationen übergehen können, müssen wir uns mit dem Bilde, das eine noch nicht in Gärung gebrachte Würze giebt, vertraut gemacht haben; auch müssen wir orientiert sein, welche Körper im Laufe der Gärung aus der Würze resp. dem Bier ausgeschieden werden können. Ein besonderes Verdienst auf diesem Gebiet hat sich Will in München durch eine Reihe sehr sorgfältiger und mühevoller Arbeiten erworben, auf die wir hier in der Hauptsache zurückgreifen müssen.

Neben den Hefen-, Bakterien- und event. auch Schimmelpilzzellen treten uns noch verschiedene andere Gebilde entgegen. Bald sind es nadelförmige oder briefcouvertähnliche Krystalle oder Krystallkonglomerate (zumeist oxalsaurer Kalk), bald sind es feine Häutchen oder schwach granulierte Flocken oder kleine, zu traubenförmigen Massen zusammengeballte oder einzeln bleibende Bläschen oder Kügelchen, bald sind es kleine Splitter oder strahlige Gebilde.

Die Krystalle von oxalsaurem Kalk stammen entweder schon vom Rohmaterial her oder sie sind während der Gärung entstanden, indem die von der Hefe produzierte Oxalsäure mit dem Kalk aus dem Wasser sich verbunden hat.

Oxalsäure ist ein Ermüdungsstoff für die Zelle; durch die Bindung an Kalk wird dieser ungefährlich.

Besonders stark bilden sich in den Schimmelpilzkulturen aus der Würze derartige Krystalle (zumeist Quadratoktaëder oder Kombination von quadratischer Säule und Oktaëder). Die dem klinorhombischen Krystallsystem angehörigen nadelförmigen Krystalle des oxalsauren Kalkes, die wir in den Krystallzellen der meisten Pflanzen finden, scheinen bei der Gärung sich nicht bilden zu können.

Die hautartigen und flockigen Gebilde können eiweifs- oder stärke- resp. amyloidartige Ausscheidungen sein; letztere reagieren auf Zusatz von Jodjodkalium mit einer Blau- bis Rotfärbung. Man spricht

von einer Eiweifstrübung und von einer Stärke- oder Kleistertrübung des Bieres.

Bei der sogenannten Harztrübung haben wir es mehr mit kleinen kugeligen Körperchen zu thun.

Die Hopfenharzkügelchen sind durch ihre sattgelbe Färbung zumeist ohne weiteres als solche zu erkennen, durch alkoholische Alkannatinktur färben sie sich zinnoberrot.

Der Trub vom Kühlschiff besteht vorwiegend aus Eiweifskörpern in Form von feineren und derberen Häutchen, die zum Teil mit einer verdünnten Lösung von Goldchlorid (Auronatrium chloratum) eine purpurrote Färbung geben, was auf Gerbstoff-Eiweifsverbindungen schliefsen läfst; einzelne Häute, namentlich der gröberen unten abgesetzten Flocken, färben sich aber auch bei längerer Einwirkung nicht.

Die trübenden Bestandteile der über dem Trub befindlichen Kühlschiffwürze sind vorwiegend „Glutinkörperchen", welche sich mit Goldchlorid nicht färben. Wenn sich beim Eintritt des Bruches beim Jungbier sowohl Hefeflocken als auch die zu traubigen Klumpen zusammengeballten Glutinkörperchen mitunter mit Goldchlorid färben, so ist dies nur durch beigemischte eiweifs-gerbstoffartige Substanz verschuldet.

Die eiweifshaltige Substanz, welche zwischen den Zellen der Hefe und den Glutinkörperchen gewöhnlich sitzt und das Zusammenballen mit bedingt, reagiert gewöhnlich nicht auf Goldchlorid.

Harztropfen reagieren auch nicht, wohl aber in geringem Grade (Violettfärbung) das Gewebe der Lupulinkörner.

Die „braunen Klümpchen", die zwischen der Hefe sich finden und wesentlich aus den sogenannten „Kräusenbläschen" bestehen, sind ebenfalls keine Eiweifs-Gerbstoffverbindungen.

Beim Abkühlen einer ungehopften Würze tritt auf eine vorübergehende Klärung bei höheren Temperaturen allmählich eine Trübung ein infolge einer Ausscheidung unzähliger kleiner, stark lichtbrechender, schwach gelblich gefärbter Kügelchen von ca. 2 μ Durchmesser, die zumeist zu traubigen Klumpen sich vereinigen. Bei 5° C. ist die Würze dick trübe und bei längerem Stehen gehen diese „Glutinkörperchen" zu Boden und die Würze darüber klärt sich allmählich wieder.

Während die Glutinkörperchen unmittelbar nach ihrer Bildung völlig homogen erscheinen, besitzen die in der Bodensatzhefe im Faſsgeläger oder in gelagerten Bieren gefundenen oft eine schaumige Beschaffenheit (wenn in ihnen Vakuolen sich gebildet haben) oder schliefslich ganz das Aussehen von entleerten Bläschen. Im Bier findet man sie auch sehr häufig in Form von sehr kleinen Körnchen wieder.

Bezüglich der chemischen Natur stimmen sie mit den zur Gruppe der Kleberproteïnstoffe gehörigen Körpern Gliadin und Mucedin über-

ein; letzteres bildet den Hauptbestandteil. Die äufsere Hülle ist wesentlich eiweifsartiger Natur; sie ist bei weitem widerstandsfähiger gegen die verschiedensten Reagentien.

In Wasser bleibt dieselbe z. B. ungelöst, auch beim Erwärmen, während der Inhalt sich löst; 1 %ige Essigsäure, 1 %ige Milchsäure, verdünnte Schwefelsäure und Salpetersäure oder Weinsäure lösen den Inhalt, während die Hülle nur stärkeren Konzentrationen zum Opfer fällt. Verdünnte Alkalien lösen die Glutinkörperchen leicht und vollkommen auf.

Die Ausscheidung der Glutinkörperchen im Bier kann eine feinflockige oder schleierige sein; letzteres ist häufiger der Fall. Beim Erwärmen auf 30—40° C. hellen sie sich etwas auf, beim Erkalten trüben sie sich jedoch wieder. Beim Aufklären geht aber nur der Inhalt der Glutinkörperchen in Lösung.

Beim Abkühlen der Biere scheiden sich die Glutinkörperchen wieder aus. Anfänglich klein, vergröfsern sie sich, indem sie miteinander verschmelzen, und erhalten so bald das Aussehen der primären Glutinkörper. In diesem Zeitpunkt ist auch die Trübung wieder da.

Setzt man einem glutintrüben Bier Alkohol zu, so geht, ehe eine Dextrinausscheidung eintritt, ebenfalls eine Lösung des Inhaltes der Glutinkörperchen voraus und damit auch eine Aufklärung. Bei direkter Behandlung gröfserer Glutinmassen mit konzentrierter Salzsäure lösen sich diese mit kirschroter Farbe. Wasserzusatz giebt einen violettroten Niederschlag. Konzentrierte Schwefelsäure giebt gelbbraune bis braunrote Lösungen, die nach einigem Stehen einen Stich nach rosarot erhalten.

Aufser den Glutinkörperchen und den Eiweifsflocken und Häuten enthält die Würze und das Bier noch ungeformte Eiweifskörper, deren Gegenwart von grofser Bedeutung für die Klärung (den Bruch), sowie für die Viskosität, Vollmundigkeit und Schaumhaltigkeit des Bieres sein dürfte. Diese Eiweifskörper werden durch Äther aus der Würze in Form dünner Bläschen gefällt, welche die in der gleichfalls ausgeschiedenen gummiartigen Grundmasse suspendierten Äthertropfen einhüllen. Bei starkem Schütteln platzen und schrumpfen die Bläschen, wobei der Äther ausfliefst. Die Ätherbläschen, wie Will sie nennt, geben alle Reaktionen der Eiweifskörper; sie speichern Anilinfarben, färben sich mit Jod goldgelb, mit Salpetersäure und später zugefügtem Ammoniak citronengelb, mit Rohrzucker und konzentrierter Schwefelsäure (Raspailsche Reaktion) rosenrot, beim Erwärmen auf 60—100° mit salpetersaurem Quecksilberoxydul, welches freie salpetrige Säure enthält, ziegelrot (Millonsche Reaktion).[1])

[1]) Millons Reagens entsteht durch schwaches Erwärmen gleicher Teile Quecksilber und Salpetersäure (Dichte 1,41) und Lösung in dem doppelten Gewicht Wasser.

Auch die untergärige Hefe, namentlich der Oberzeug, enthält von diesen Eiweifskörpern, sowie von dem Gummi gröfsere Mengen.

Frisch gefafste, dickbreiige Bierhefe im Reagenzglas mit dem mehrfachen Volumen Äther heftig geschüttelt, verwandelt sich in eine steife, gallertartige Masse, welche so zäh ist, dafs sie beim Umdrehen des Glases nicht ausfliefst. Die Gallerte kann bis das 8fache des Hefevolumens Äther enthalten; letzterer wird am leichtesten aufgenommen, wenn man ihn in kleinen Portionen allmählich zugiebt. Nach mehrtägigem Stehen scheidet sich eine obere gallertartig glasige, graubraune, durch Alkannin stark färbbare Schicht von einer mehr dünnflüssigen, hellgelbbraunen, mehr Hefezellen fassenden unteren Schicht ab. In der Gallerte zeigt uns das Mikroskop Äthertropfen und zwischen diesen ein der Menge und Gröfse der letzteren entsprechendes Netzwerk. Beim Verdunsten des Äthers am Rande des Deckgläschens beobachtet man eine Faltung und Schrumpfung des jeden Tropfen einschliefsenden Häutchens, welches die oben erwähnten Reaktionen giebt.

Die Gallerte dürfte wesentlich aus Gummi (Galaktoxylan) bestehen. Beim Erwärmen mit Wasser zur Austreibung des Äthers und der Zugabe von Phloroglucin und Salzsäure tritt eine kirschrote Färbung auf; mit Salzsäure allein erhitzt, wird die milchig getrübte Flüssigkeit erst völlig klar, dann färbt sie sich zwiebelrot. Mit Orcin und Salzsäure färbt sich die Flüssigkeit schliefslich grünlich.

Bei der Gummitrübung, die mikroskopisch ohne Anwendung von Anilinfarben gar nicht nachweisbar ist, handelt es sich um aufserordentlich feine Partikelchen oder Flöckchen, die auch beim Erwärmen nicht in Lösung gehen.

Eine schwache Schleierbildung in Bieren hat Will zu wiederholten Malen durch kleine, blasse, tröpfchenartige Ausscheidungen verursacht gefunden, die in Aussehen und Gröfse sehr an Glutinkörperchen erinnerten. Mit verdünnten Anilinfarben und mit Jodjodkalium färben sie sich höchstens nur ganz schwach; eine Aufspeicherung der Reagentien, wie bei den selbst in ganz feinen körnigen Flöckchen ausgeschiedenen Eiweifskörpern, wurde in keinem Falle beobachtet. Es ist also nicht anzunehmen, dafs die Hauptmasse der Körperchen eiweifsartiger Natur ist. Ähnliche Tröpfchen wurden auch in Nährgelatinen, in denen Hefekolonien heranwuchsen, beobachtet.

Nach Laschè soll aus klarem Bier durch Zusatz reiner Hefe ein Ausscheiden von Nukleïnkörpern erfolgen, die eine Trübung verursachen, welche mit Eiweifstrübungen verwechselt werden kann. Die betreffenden Ausscheidungen geben nach dem Absetzen auf der Bodensatzhefe eine bräunliche Schicht.

Nach Beobachtungen von Topf können auch ungenügend gebrühte Korke die Ursache von Ausscheidungen im Biere abgeben. Es handelt

sich hier offenbar um Verbindungen von Gerbsäure mit Eiweifskörpern. Beim Erhitzen lösen sich sowohl die trübenden Bestandteile als auch der schon gebildete Niederschlag bis auf wenige harzartige, schnell sich absetzende Stoffe wieder auf. Beim Erkalten tritt wiederholt Trübung ein.

Die splitterartigen Gebilde, welche wir bei der mikroskopischen Untersuchung namentlich längere Zeit gestandener Hefen beobachten, sind die Trümmer der sogenannten Netzbildung, die von Hansen zuerst näher beschrieben wurde. Stellenweise finden wir einen gröfseren Zellenhaufen zusammengehalten durch eine als Kitt fungierende Masse, die nach dem Auswaschen der Zellen eine wabenartige Struktur erkennen läfst. Indem dieses Gebilde zerstückelt wird, erscheinen dann jene 3—4strahligen Splitter.

Kontrolle der Reinzuchtapparate.

Von besonderer Wichtigkeit ist die fortlaufende biologische Kontrolle namentlich da, wo Hefereinzucht betrieben wird. Hier ist die Forderung gestellt, schon im Reinzuchtapparat jeden fremden Organismus von der in Kultur genommenen Rasse fern zu halten. Zeigt die Untersuchung die Gegenwart eines solchen an, dann ist der Apparat aufser Thätigkeit zu setzen, bis ein neuer Satz Reinhefe fertiggestellt ist. Ein Fortarbeiten mit der verunreinigten Hefe würde unter Umständen grofse Nachteile haben können.

1. Probeentnahme.

Vor der Probeentnahme ist der Hahn, durch den das Bier im Reinzuchtapparat entleert werden soll, gründlich zu säubern und auszudämpfen. Wird dies verabsäumt, dann gelangen die im Innern des Rohrstückes leicht sich ansiedelnden Keime, gewöhnlich Torula- oder Kahmhefen, mit in die Proben und giebt die Analyse dann ein ganz falsches Bild, in dem das Innere des Apparates völlig frei von diesen Infektionskeimen sein kann. Auch ist darauf zu achten, dafs während der Probeentnahme nicht das Wasser von allen Seiten heranspritzt.

Es sollte niemandem die Führung eines Reinzuchtapparates anvertraut werden, der nicht auch die Proben sachgemäfs zu entnehmen weifs.

Aus jedem Apparat füllen wir uns zwei kleine sterile Fläschchen von ca. 25 ccm Inhalt zu $^4/_5$ voll an, eines mit dem zuletzt ablaufenden Bier, eines mit der mit frischer Würze aufgerührten Hefe.

Die Probegläschen, sofern sie an eine Versuchsstation gesandt werden sollen, mögen erst einen Tag bei Zimmertemperatur mit einem Wattepfropf verschlossen gehalten werden, damit die Hauptmenge der

Kohlensäure noch entweichen kann. Den andern Tag wird der Wattepfropf mit einem in der Flamme angesengten guten Kork vertauscht, damit bei der Fahrt nichts herauslaufen kann.

Bei der Ankunft werden die Korke gelüftet, dann der Inhalt etwas aufgeschüttelt und von der hefereicheren Probe eine Tröpfchenkultur angelegt. Man sieht sich sogleich eine Reihe Tröpfchen oder Striche an, die sehr dicht nebeneinander angelegt werden müssen, um eine möglichst grofse Zellenzahl zur Analyse heranzuziehen. Striche mit wenig Zellen hat keinen Sinn in dem vorliegenden Falle. Bemerkt man nichts Auffälliges, dann wartet man mit dem gründlicheren Durchsehen bis zum nächsten Tag.

Steht als Probe nur ein fast blankes Bier zur Verfügung, dann greift man zur Centrifuge und schleudert die spärlichen Hefezellen aus, um sie mit der Feder aufzunehmen und zur Tröpfchenkultur zu verarbeiten. —

Die Gläschen werden wieder zugekorkt und stehen gelassen, um nach ca. 8 Tagen noch einmal auf Gegenwart von Sarcina, Milchsäure-Essigbakterien, Kahmhefen u. dgl. geprüft zu werden mittelst eines einfachen mikroskopischen Präparates oder wieder mittelst der Tröpfchenkultur.

Sollte sich dann dergleichen zeigen, während die erste Tröpfchenkultur nichts Auffälliges ergeben hat, dann kann man sich damit zufrieden geben, dafs die Infektion eben nur eine ganz minimale gewesen sein kann, und noch keine Gefahr für den Betrieb bedeutet. Die Warnung käme dann noch rechtzeitig genug.

Verfasser hat dieses Verfahren genügend sicher gefunden. Es hat den grofsen Vorteil, dafs kein Thermostat, keine Gipsblöcke, keine Glasschalen u. s. w. nötig sind.

Einzelne Brauereien, in denen auf peinliche Reinhaltung der Gärung neben der Reinzucht gesehen wird, haben neben den Proben aus dem Reinzuchtapparat auch Proben aus den Gärbottichen untersuchen lassen. Fast immer wurden die Gärbottichproben, die ebenso untersucht worden waren, herauserkannt an minimalen Verunreinigungen, die für den Betrieb belanglos waren. Auf die Sporenuntersuchung konnte ganz verzichtet werden.

Sie anzuwenden ist aber auch kein Fehler, ebensowenig wie die Auffindung einer unendlich kleinen Infektion.

Will giebt einem anderen Verfahren der Untersuchung den Vorzug, bei welchem er noch Infektionen nachgewiesen hat, die er mit der Tröpfchenkultur nicht mehr ausfindig machen konnte.

Er scheint aber die Tröpfchenkulturen so angelegt zu haben, „dafs die Hefen in kleine Flüssigkeitströpfchen in möglichst geringer Anzahl verteilt“ wurden, während wir möglichst viel Hefezellen im Tröpfchen

zu haben wünschen. Die normale Hefe wird sich hier kaum noch vermehren, wohl aber findet die wilde Hefe, sowie die Bakterien noch Nahrung genug, um eine Nachkommenschaft zu bilden und durch diese sich kenntlicher zu machen.

Will läfst eine gröfsere Menge (mehrere ccm) Hefe in einer mit 4 % Weinsäure versetzten Rohrzuckerlösung 48 Stunden bei 25° C. gären, zieht dann sorgfältig ab und bringt die Hefe in frische Würze.

Wenn S. apiculatus nicht vorhanden ist, durch welchen die übrigen Hefen in der Entwicklung zurückgehalten werden, so wird je nach der Zahl der lebenden Zellen die Gärung in der Würze früher oder später eintreten und sich ein Bodensatz von Hefe bilden. Derselbe wird dann durch Auftragen auf einen angefeuchteten Gipsblock auf Sporenbildung geprüft.

Das Aussehen und die Beschaffenheit der Sporen ist entscheidend für die Frage, ob wilde Hefe vorhanden ist.

Bezüglich der Anwesenheit von Bakterien wird die einfache mikroskopische Untersuchung zu Hilfe genommen.

2. Das mikroskopische Bild der entnommenen Proben.

Wir bringen einen Tropfen von dem Bodensatz oder der durch Ausschleudern mittelst der Centrifuge erhaltenen Hefe auf den flachen Objektträger.

Wir thun gut, das Präparat etwas über der Flamme zu erwärmen oder den Tropfen mit dem Deckgläschen wiederholt zu peitschen, damit die Kohlensäure entfernt wird. Neben der Mehrzahl von eiförmigen oder grofskugeligen Zellen werden uns auch abweichende Formen begegnen. Einzelne Zellen sind vielleicht langgestreckt, wurstförmig, andere wieder sehr klein, elliptisch oder kugelrund. Kommt dazu noch ein verändertes Aussehen des Zellinhalts, dann werden wir auf die Gegenwart wilder Hefen schliefsen können. Sicher dürfen wir uns allerdings noch nicht in unserem Urteil fühlen; es kann auch die Kulturhefe öfters schlauchförmige oder kleinere Zellgebilde schaffen. Andererseits kann aber auch dann, wenn nur eiförmige bis kugelige Zellen vorhanden sind, noch eine fremde Hefe beigemischt sein. Die Beurteilung einer Hefe nach dem mikroskopischen Bild allein kann leicht einmal zu schlecht, das andere Mal zu gut ausfallen. Gröfsere Beimengungen irgend einer fremden Hefe werden allerdings einem geübteren Auge schwerlich entgehen, wie überhaupt gesagt werden mufs, dafs durch längere Erfahrungen das Auge in dieser Beziehung sehr geschärft wird.

Leichter fällt es uns schon, die Gegenwart von Bakterien mikroskopisch festzustellen. Hier sagt uns ein Blick durch das Mikroskop oft mehr als lange Kulturversuche. Die Bakterien allerdings haben häufig

auch Doppelgänger in kleinen Kügelchen oder Stäbchen, die in Wirklichkeit Eisweifs(Glutin)körperchen oder Hopfenharzausscheidungen oder Krystalle sind. Ein Hilfsmittel von nicht zu unterschätzender Bedeutung steht uns aber hier in der Natronlauge zu Gebot. Mit Ausnahme der Krystalle werden von ihr alle diese Körper aufgelöst, die Bakterien dagegen nur zum Quellen gebracht, wodurch sie um so deutlicher zwischen den Hefezellen hervortreten. Auch die Hefezellen haben durch die Natronlauge Veränderungen erfahren. Die gröfseren Flocken sind durch sie zerteilt worden. Zelle für Zelle reiht sich jetzt auf dem Objektträger in einer Schicht aneinander. Es ist gut, wenn wir nach der Zugabe der Natronlauge das Präparat eine kleine Weile ruhig liegen lassen, damit sich alles, Hefen und Bakterien, auf dem Grunde der Flüssigkeitsschicht absetzen kann. Ob wir zu konzentrierte oder zu viel Natronlauge angewandt haben, erkennen wir an dem Aussehen der einzelnen Zellen. Bei zu viel Lauge verschwinden die Vakuolen, das aufquellende Plasma saugt die Vakuolenflüssigkeit auf und füllt nun die ganze Zelle aus. Selbst abgestorbene Zellen können durch diese Plasma-Quellung ein verändertes Aussehen erhalten. Wir geben nur soviel Natronlauge zum Präparat, dafs gerade die Flocken sich lösen und Hopfen- und Eiweifsausscheidungen verschwinden, dagegen die Vakuolen noch scharf erkennbar sind.

Um die Menge der abgestorbenen Hefezellen besser übersehen zu können, geben wir zu einem neuen Präparat soviel wäfsrige Methylenblaulösung, dafs die Flüssigkeit im Präparat den Farbstoff noch etwas im Überschufs enthält. Die abgestorbenen Zellen färben sich damit intensiv blau. Bei Anwendung einer mittleren Vergröfserung werden wir das Zahlenverhältnis zwischen lebenden und abgestorbenen Zellen leicht feststellen können.

3. Die bei der Tröpfchenkultur erhaltenen Bilder.

Zunächst wird es unsere Aufgabe sein, die Erscheinungen, welche die Kulturhefe in den Tröpfchen giebt, uns fest einzuprägen. Um Irrtümern aus dem Wege zu gehen, wird der Anfänger gut thun, gleich von der ersten Gärung im frisch geimpften Reinzuchtapparat Proben zu entnehmen von verhältnismäfsig klarem Bier, welches im ersten Probegläschen aufgefangen wurde, da er hier die Gewifsheit hat, dafs er nur Kulturhefezellen in das Präparat bekommt. Welche Erscheinungen treten uns hier entgegen?

Wir konstatieren zunächst, dafs in den Bier-Tröpfchen die Vermehrung der Zellen noch weiter geht, und dafs binnen wenigen Tagen in jedem Tröpfchen Hunderte von Zellen auch aus wenigen Aussaatzellen sich entwickeln können. Gleichgrofse Tropfen bilden annähernd dieselbe Anzahl Zellen. Wir beobachten ferner, dafs einzelne Zellen trotz an-

scheinend gesunden Aussehens nicht mehr auskeimen; ferner, dafs andere Zellen zwar noch auskeimen, aber nach wenigen Generationen das Wachstum sistieren, um es vielleicht einige Tage später von neuem wieder aufzunehmen. Es fällt uns auf, dafs namentlich im Bier die Zellen ziemlich gleichgrofs bleiben und überhaupt regelmäfsig wachsen, in Berührung mit frischer Würze (2. Probe) dagegen oft schlauchartige Auswüchse bilden, die bei dem Anfänger leicht den Verdacht aufkommen lassen, als wären wilde Hefen, vielleicht Pastorianus-Arten, gegenwärtig. Wir achten ferner auf das Aussehen des Plasmas. Dasselbe erscheint fast durchweg deutlich körnig, selbst in jungen Sprossen; später treten auch kleine Kügelchen in gröfserer Menge, reihenweise geordnet, auf. Lassen wir das 8 Tage und noch älter gewordene Präparat kurze Zeit austrocknen und befeuchten es dann wieder, so werden diese kleinen Fetttröpfchen zu einem einzigen grofsen Tropfen zusammengeflossen sein, der inmitten eines jetzt vollkommen homogen aussehenden Plasmas eingebettet liegt. Wir bekommen ungefähr das Bild von einer Torula-Hefe, nur dafs die Zellen der letzteren bei weitem kleiner sind. Nachdem wir uns diese Merkmale für die normale Hefe genau eingeprägt haben, wird es uns nicht allzuschwer werden, die Vegetationen anderer Hefenarten davon zu unterscheiden. Sporenbildung werden wir kaum in solchen Tröpfchen mit untergäriger Kulturhefe beobachten. Bei obergäriger Hefe treten sie mitunter auf.

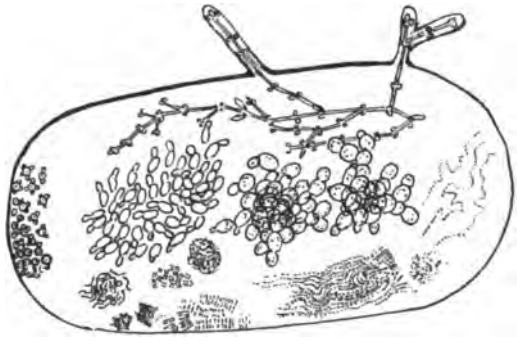


Abb. 113. Entwicklung in einer Tröpfchenkultur. (Schematisch.) Links Torula, dann wilde Hefe, zwei Kulturhefen; oben eine Mycelhefe; am unteren und rechten Rande Bakterien.

Endlich achten wir noch auf den Zusammenhang der einzelnen Zellen untereinander. Da finden wir selbst nach Wochen noch einzelne Sprofsverbände erhalten. Die meisten Zellen allerdings stehen in keiner organischen Verbindung mehr, wie etwa in einem jungen Sprofsverband, aber sie verkleben sich mittelst einer schleimigen Substanz, welche die Zellhaut umgiebt, zu gröfseren Häufchen. Abweichend von der Unterhefe verhalten sich im allgemeinen die Oberhefen, indem diese schon in den ersten Tagen ausgedehnte Sprofsverbände, die nicht so leicht zerfallen, bilden. Besonders schön sind dieselben bei Weifsbierhefen beobachtet worden, kommen aber auch bei Brennerei- und Prefshefen vor.

Die bisherigen Erfahrungen bei der Kontrolle von Reinzuchtapparaten haben ergeben, dafs in den Fällen, wo eine Infektion sich

eingefunden hatte, diese zumeist eine Kahmhefen- oder Torula-Vegetation darstellte; in selteneren Fällen wurde eine Sarcina-Infektion ermittelt.

Wir wollen zunächst diese beiden Vegetationstypen etwas eingehender charakterisieren.

Die Kahmhefenvegetationen zeigen, wie die Mehrzahl der wilden Hefen, eine mehr oder weniger starke Längsstreckung der Zellen und auch ein homogen aussehendes Plasma, nur tritt hier öfter die Tendenz zur Bildung grofser, andauernder Sprofsverbände hervor; ferner zeigen sich in dem homogenen Plasma, das zumeist grofse, langgestreckte Vakuolen einschliefst, Fetttröpfchen, gewöhnlich 1—2 in einer Zelle. Die Lagerung der Fetttröpfchen ist in den benachbarten Zellen ziemlich die nämliche, und kann sich diese Regelmäfsigkeit selbst auf die sämtlichen Glieder eines grofsen Sprofsverbandes erstrecken. Die Kahmhefen brauchen viel Sauerstoff und wachsen demzufolge zumeist dicht an der Grenzschicht des Tropfens. Einzelne Zellen oder ganze Äste wölben oder strecken sich aus der Flüssigkeit hervor; andere dicht an der Grenzschicht gelegene Zellen bewirken eine Depression derselben. Sie fallen uns im mikroskopischen Bild des Tropfens sofort auf durch den stärkeren Glanz; es hat oft den Anschein, als ob in der Längsachse dieser Zellen eine fettige Masse lagerte, die seitlich von wäfsriger Flüssigkeit umgeben ist. Bei einzelnen Arten wachsen ganze Stränge über den Rand des Tropfens heraus, wobei diese sich dem Deckgläschen anschmiegen und eine beträchtliche Menge Flüssigkeit mit sich fortziehen. Zu diesem Typus wollen wir auch die an Schimmelpilzvegetationen erinnernden Hefen zählen, die durch lange Mycelfäden, an denen Sprofszellen seitlich auftreten, ausgezeichnet sind. In den Fäden treten hin und wieder Querwände auf; die Form der oft in Unmassen abgeschnürten Zellen erinnert sehr häufig an gewisse Torula-Arten.

Zu den Hefen, welche bald im Kahmhefen, bald im Torulavegetationstypus wachsen, gehört auch die Mehrzahl der Fruchtätherhefen, denen zum Teil die Bildung hutförmiger Sporen eigentümlich ist.

Die Torulavegetationen bestehen in der Hauptmasse aus Zellen von nahezu kugeligem Bau, in denen gewöhnlich ein oder nur wenige Fetttröpfchen eingebettet liegen. Das Plasma ist fast durchweg homogen. Die Gröfsenverhältnisse der Zellen wechseln. Es giebt Arten, deren Zellen fast der normalen Hefe gleichkommen. Bei den grofszelligen Arten begegnen wir häufig der Erscheinung, dafs die äufserste Schicht der zumeist sehr dicken Zellwand abgeworfen wird, also eine Art Häutung eintritt; bei einer mittelgrofsen Art wurde auch ein deutlich sichtbarer schleimiger Hof nachgewiesen. Bei den kleinzelligen Arten ist die Erscheinung häufig, dafs einzelne Zellen später ungewöhnlich grofs werden, dabei aber ein welkes Aussehen bekommen. Sprofs-

verbände finden wir sehr häufig vor; die Sprossen setzen an beliebigen Stellen der kugeligen Mutterzelle an, fallen aber häufig schon ab, ehe sie die Gröfse der letzteren erreicht haben. Diese kleinen Sprösslinge können noch kleinere Zellen angliedern. Hier werden Zwergformen gebildet, wie sie bei anderen Hefen kaum vorkommen. Nicht selten treten dicht nebeneinander an einer Stelle der Mutterzellwand 5, 6 und mehr kleine Sprossen hervor, hier eine sogenannte Krone, corona, bildend. Die Zellen mancher Torula-Arten zeigen im mikroskopischen Bild einen grünlichen Schimmer.

In den Tröpfchenkulturen können manche Torula-Arten ganz und gar den Tropfen ausfüllen, soviel Zellen werden gebildet; es wird also fast die ganze Flüssigkeit aufgebraucht. In Bezug auf Vermehrungsfähigkeit werden sie kaum von anderen wilden Hefen übertroffen.

Bei weitem wichtiger als die Gruppen vom Kahm- und Torulatypus ist die Gruppe der Nachgärungshefen. Ihnen werden wir, namentlich bei Untersuchungen von Bierproben aus dem Lagerfafs, häufig begegnen und ihnen werden wir auch die gröfste Aufmerksamkeit schenken müssen. Das Hefenfleckenbild innerhalb des Tröpfchens ist hauptsächlich charakterisiert durch den Mangel kräftiger Schatten, durch die schwankende Zellengröfse, durch die dichte Zusammenlagerung der Zellen und durch die staubige Verteilung im Tröpfchen bei starker Erschütterung. Die Membran der Zellen ist dünn, das Plasma in der Jugend homogen, ohne ausgesprochene Körnelung. Die Form der Zellen ist oval bis wurstförmig. Granulierung erst in mehrtägigen Kulturen eintretend. Zellenproduktion bei weitem gröfser als bei der Kulturhefe.

In einigen Ausnahmefällen ist das Plasma von vornherein etwas körnig und die Sprofsverbände in Form unregelmäfsiger Knäuel andauernd. Hier bietet aber die Zellenform und die Zellengröfse Merkmale zur Unterscheidung von der Kulturhefe.

Eine grofse Anzahl der Hefen dieser Gruppe bildet bereits in den Tröpfchen Sporen, zum Teil in aufserordentlicher Menge; der Zeit nach allerdings zumeist später als bei der Gipskultur.

Eine Anzahl Hefen, die nicht zu den bisherigen Gruppen gestellt werden können, wie Saccharomyces apiculatus, S. Ludwigii, Schizosaccharomyces Pombe und octosporus, würden sich ohne weiteres durch ihre charakteristischen Zellformen identifizieren lassen. Eine Verwechslung derselben mit Kulturhefe ist kaum möglich. (Beschreibung dieser Arten im Abschnitt über Hefenkunde.)

In den Tröpfchen kommen mitunter auch Schimmelpilze zur Entwicklung: nur bei einzelnen derselben, welche mehr oder weniger zur Bildung hefeähnlicher Zellen veranlagt sind, kann unter Umständen eine Verwechslung mit Hefen stattfinden.

In Bierproben findet sich nicht selten ein Pilz, der sich durch

Sprossung vermehrt, in der Masse hefeähnlicher Zellen aber dann einzelne septierte Fäden ausbildet, die sich nach Art eines Oidiums teilen, dabei aber gleichzeitig noch sprossen können. Häufig sind auch Schimmelpilze, die zunächst fadig auswachsen, dann aber massenhaft an kleinen Seitenästchen hefeähnliche Zellen abschnüren, denen jedoch die Fähigkeit zu sprossen abgeht. Besonders bei Untersuchungen der Vegetationen von Leitungsrohren findet man solche Pilze häufig vor. Dafs sie sich gelegentlich auch in Reinzuchtapparaten einstellen können, ist nicht ausgeschlossen.

Die Frage der Schädlichkeit der einzelnen Vegetationen können wir ohne weiteres nicht beantworten.

Sollte uns bei der Untersuchung der Probe 2 aus dem Reinzuchtapparat das Vorhandensein zu vieler Zellen stören, dann können wir eine Verdünnung der Probe mit steriler Würze oder mit dem Bier von Probe 1 voraufgehen lassen.

Wir haben bisher nur von Hefenflecken und Schimmelpilzvegetationen in den Tröpfchen gesprochen, der Bakterienvegetationen aber noch nicht Erwähnung gethan. Mit dem bloſsen Auge erkennbare Trübungen werden durch diese seltener hervorgerufen werden. Wohl aber wird uns das Mikroskop hier Aufschlüsse über ihre Gegenwart geben. Wie bei den Gelatinekulturen im hohlen Objektträger (Plattenkulturen en miniature) vermögen wir auch hier oft festzustellen, ob wir eine einzelne Bakterienart oder ein Gemisch im Tröpfchen vor uns haben. Das ist allerdings richtig; eine Bakterienvegetation im Tröpfchen giebt oft nicht so charakteristische Bilder, als eine solche, die in Form einer Kolonie in Gelatine gewachsen ist; gleichwohl trifft man auch im Tröpfchen so charakteristische Zusammenlagerungen, dafs man die eine oder andere Art mit Leichtigkeit wieder erkennen kann. Biersarcina, der Saccharobacillus Pastorianus, Proteus vulgaris, Essigsäurebakterien und noch einige andere wachsen in den Biertröpfchen sehr gut und sehr charakteristisch.

4. Die Sporenuntersuchung.

Wie die Sporenkultur angesetzt wird, ist schon auf Seite 81 beschrieben worden. Da wir in jedem Reinzuchtapparate nur eine einzige Rasse zur Vermehrung bringen, und da wir von dieser die Zeit, innerhalb welcher sie Sporen bildet, genau ermitteln können, ist hier der Nachweis der Gegenwart wilder Hefen viel sicherer zu führen, als wenn wir gewöhnliche Betriebshefen vor uns hätten, von denen wir nicht wissen, wieviel Kulturheferassen sie gemischt enthalten und innerhalb welcher Zeit jede derselben Sporen bildet. Da eine grofse Anzahl von wilden Hefen existiert, welche nicht Sporen bilden, ist die Gipsblockkultur kein universelles Unterscheidungsmittel zwischen Kultur- und

wilden Hefen. Auch die Gegenwart von Hefen, welche erst später als die reingezüchtete Hefe ihre Sporen bilden, ist durch die Sporenmethode nicht sicher festzustellen [1]).

Untersuchung von Bier aus dem Gärbottich oder Lagerfafs.

Die Probeentnahme geschieht auch hier mittelst kleiner steriler Gläschen, die mit sterilem Wattepfropf oder Kork verschlossen sind. Die bequemste, einfachste und schnellste Untersuchungsmethode ist wieder die im hängenden Tröpfchen im hohlen Objektträger. Wir haben uns vor dem Beginn der Untersuchung eine gröfsere Anzahl hohler Objektträger präpariert, in der Weise, dafs wir sterile Deckgläschen mittelst Vaselin aufgekittet haben. Ein Fläschchen mit Spiritus und etwas Watte, sowie einige Zeichenfedern haben wir ebenfalls in Bereitschaft. Wir befeuchten einen kleinen Flock Watte mit Spiritus, putzen damit die Feder, zünden die Watte an und flambieren darin sämtliche Federn, die auf Holzstiften befestigt sind. Nach dem Abkühlen derselben tauchen wir sie in die Bierproben ein, spritzen das Zuviel an Bier aus, heben das Deckgläschen ab und tragen auf der Unterseite 30—40 Tröpfchen in Form kleiner Striche auf. Bei einiger Übung gelingt es uns, dieselben gleich grofs zu machen und in regelmäfsigen Abständen in mehreren Reihen aufzutragen, so dafs jeder Strich durch 2 Zahlen genau gekennzeichnet ist. Die eine Zahl giebt die Reihe an, die andere, der wievielte Tropfen in der Reihe es ist. Um Verwechslungen der Reihen vorzubeugen, machen wir auf der Aufsenseite des Deckgläschens neben den ersten Strich der ersten Reihe einen kleinen Punkt mit Tinte. Den dritten Strich der zweiten Reihe könnten wir z. B. als II^8 bezeichnen (Abb. 91, S. 172). Während des Auftragens kann leicht ein Eintrocknen der zuerst gezogenen Striche erfolgen. Wir suchen dies zu verhüten dadurch, dafs wir die Bierprobe vorher etwas kalt stellen und dann möglichst schnell mit der Feder arbeiten. Die Proben, sofern sie eben aus dem Keller geholt sind, sind kalt genug und lassen sich so am besten auftragen. Er wird sich in diesem Falle sogar noch Feuchtigkeit aus der Luft auf den kleinen kalten Tröpfchen niederschlagen. Vor dem Aufdrücken des Deckgläschens auf den Vaselinring hauchen wir noch den Objektträger etwas an, damit die eingeschlossene Luft genügend feucht ist.

Ein sofortiges Mikroskopieren ist zwar anzuraten, aber nicht unbedingt nötig. Da wir die Präparate vor grofsen Erschütterungen be-

---

[1]) Um wilde Hefen zu vorwiegender Vermehrung zu bringen, macht Jörgensen die Würze weinsauer; nach Delbrücks und Munsches Erfahrungen würde unter Umständen auch durch niedrige Temperaturen derselbe Zweck erreicht werden können.

wahren, bleiben die einzelnen Zellen in den Strichen ungefähr an den ursprünglichen Stellen und keimen auch dort aus. Um jede Zelle finden wir am folgenden Tage eine mehr oder weniger zahlreiche Nachkommenschaft. Auch wenn 2 verschiedenartige Zellen dicht nebeneinander gelagert waren, vermischen sich doch die Häufchen nur wenig; man wird selbst in diesem Falle oft noch die Hefen infolge ihres verschiedenen Aussehens auseinanderhalten können. Ähnliche Unterschiede würden wir ja auch erhalten, wenn wir, wie bei der Hansenschen Methode der Reinkultur, die Probe mit Gelatine hätten erstarren lassen, oder wenn wir nach dem Vorschlag von Schönfeld das mit etwas flüssiger Gelatine vermischte Bier mit der Feder in Strichen, wie bei der Tröpfchenkultur, auftragen.

In Gelatine wachsen die Kolonien oft etwas langsamer, dann aber wachsen sie in Kugeln, die, je gröfser sie werden, desto mehr ihren Inhalt dem mikroskopischen Blick verschliefsen. Hier im Tröpfchen ordnet sich alles mehr in der Fläche und fast jede Zelle bleibt kenntlich. In den Tröpfchenkulturen finden die Zellen Bedingungen vor, die der Wirklichkeit in der Praxis nahe kommen. Das Bier ist von derselben Beschaffenheit wie vorher, nur ist reichlicher Sauerstoff und eine höhere Temperatur vorhanden, welche beide die Entwicklung der Zellen beschleunigen. Solche Tröpfchen, welche keine Aussaat erhalten haben, bleiben steril.

Von älteren Bieren können wir häufig genug 1—2 Präparate mit je 30 Strichen erhalten, in denen nichts angeht; auch bei Zwickelproben kommt dies schon vor; je jünger die Biere sind, desto zahlreicher werden Hefenflecke auftauchen. Immerhin werden aber Tropfen genug noch vorhanden sein, die nur 1 Zelle als Aussaat bekommen haben. Hier haben wir dann in der Nachkommenschaft eine kleine Reinkultur vor uns, deren Eigenschaften wir gleich näher studieren können. Es ist ein Leichtes, solche Tröpfchen abzuimpfen und auf Gelatineröhrchen zu übertragen.

Bei Gärbottichproben wird man allerdings den einzelnen Strich möglichst dünn und entsprechend lang anlegen, damit die darin befindlichen Zellen, vielleicht 50—100 und darüber, mit ihrer Nachkommenschaft in den ersten Tagen noch auseinanderzuhalten sind.

Die Untersuchung des Bottichbieres, unmittelbar unter der Decke am Ende der Hauptgärung geschöpft, ist aufserordentlich zu empfehlen, da sich hier gerade die wilden Hefen und Bakterien gern aufhalten.

Wie mir Herr Törnell-Stockholm mitteilt, centrifugiert er das Bottichbier und benützt die ausgeschleuderte Hefe sogleich zum Aufstreichen auf den Gipsblock.

Fällt diese Untersuchung gut aus, dann kann man zumeist darauf verzichten, die Bodensatzhefe noch besonders zu untersuchen.

Da es aber auch wilde Hefen giebt, die als Klumphefen sogleich zu Boden gehen (z. B. S. cratericus), so wäre auch hier die ausschliefsliche Untersuchung von Bier aus der Bottichdecke eine Einseitigkeit, die leicht sich rächen könnte.

Hier seien einige Beispiele aus der Praxis angeführt, und zwar aus einer Brauerei, die erheblich an einer Sarcina-Epidemie litt.

Proben aus Flaschenbier.

1. Brauerei N. Bier aus Lagerkeller Abteilung III. Fafs 29. Voll 14. 12. 94. Abgefüllt am 25. 4. Auf Flasche bis 7. 6. im Zimmer gestanden.

Probe aus der oberen Hälfte des Bieres: Jedes Tröpfchen enthält mehrere Sarcinazellen und Zellen des stäbchenförmigen Mischsäurefermentes. Befund 6 Tage später: In einigen Tröpfchen haben sich diese Bakterien je bis auf ca. 50 Individuen vermehrt, in einigen die Sarcina bis 1000, die Milchsäurebakterien bis 100. —

2. Bier aus Abteilung IV. Fafs 195. Voll 18. 20. Abgefüllt 14. 5. Bis zum 7. 6. auf Flasche im Zimmer gestanden: Jedes Tröpfchen aus der oberen Hälfte der Flasche enthält nur Sarcina. Befund am 18. 6.: Letztere hatte sich in 4 Tröpfchen kaum vermehrt, in den übrigen Tröpfchen bis 100 und mehr neue Zellen gebildet.

3. Bier aus Abteilung IV. Fafs 214. Voll 5. 1. Abgefüllt 22. 5. Bis 7. 6. im Zimmer auf Flasche. Vom 7. 6.—18. 6.: Jedes Tröpfchen enthält bis 500 dicke gekrümmte Stäbchen (fast wie das Buttersäureferment der Getreidemaischen). Einige Tröpfchen zeigen auch gleichzeitig Sarcina, bis 1000 Zellen.

4. Bier aus Abteilung II. Fafs 559. Voll 25. 1. 95. Abgefüllt 7. 6.: In der Probe von diesem Tage kam pro Tröpfchen durchschnittlich nur eine Sarcinazelle. Am 18. 6., also nach 11 Tagen, ist die Vermehrung in einigen Tröpfchen nur bis 20, in anderen bis 10 000 gegangen.

Proben direkt aus Lagerfässern.

5. Abteilung I. Fafs 212. Voll 9. 2. Am 7. 6. bei der Aussaat von 15 Tröpfchen 7 davon Sarcina enthaltend; in 3 davon waren nach 6 Tagen nicht mehr als 20, nach 12 Tagen nicht mehr als 100 gebildet. Sämtliche Sarcinen hier kleinzellig. In 4 Tröpfchen waren nach 6 Tagen je 200—300 Zellen entstanden, die bis zum 12. Tage nicht weiter wuchsen, sondern nur zu gröfseren lockeren Paketen anschwollen.

6. Abteilung VI. Kellertemperatur nur 4° R. Fafs 98. Voll 25. 2. Am 7. 6.: In 1 Tröpfchen durchschnittlich 3 Sarcinen. Nach 6 Tagen hatte jedes Tröpfchen 8—30 Sarcinen, dieselben dick, klumpig. Nach 12 Tagen 30—100 Sarcinen; ein Tröpfchen aber mit nur 8 Sarcinen. In dem eben so lange zurückgestellten Gläschen kamen nach dem Aufschütteln pro Tröpfchen 20 normale und 150 wilde Hefezellen und 200 Sarcinen.

7. Abteilung VI. 4° R. Fafs 163. Voll 10. 3. Am 7. 6.: pro Tröpfchen 15 Sarcinen. Nach 6 Tagen 7—30 Sarcinen. 4 Tröpfchen mit normaler, 1 mit wilder Hefe. Nach 12 Tagen pro Tröpfchen 200—**10 000** Sarcinen. In den meisten Tröpfchen zeigten die Sarcinen paketartige Zusammenlagerungen. Im Probegläschen nach dem Aufschütteln pro Tröpfchen 40 normale, 160 wilde Hefezellen, 300 Sarcinen.

8. Abteilung VI. Fafs 35. Voll 10. 3. Am 19. 6.: In 17 Tröpfchen war nichts angegangen. Im Probegläschen nach 12 Tagen nach dem Aufschütteln pro Tröpfchen 45 normale Hefezellen, 15 wilde und 20 Sarcinen.

Die vorliegenden Beispiele zeigen, wie unterschiedlich selbst Biere von derselben Abteilung biologisch sich verhalten können; gleichzeitig geht aber auch aus den Befunden hervor, wie subtil die Tröpfchenmethode die kleinsten Unterschiede in dem physiologischen Zustande der Zellen kennzeichnet.

Das Zurückstellen der Proben in zugekorkten Gläschen ist, wie man bei 8 ersehen konnte, sehr zweckmäfsig, um auch die Vegetationen kennen zu lernen, die in dem geringen Flüssigkeitsquantum, das zur Anlage der ersten Tröpfchenkultur gedient hat, nicht zur Aussaat gekommen sind.

Bei einiger Geschicklichkeit in der Herstellung der Tröpfenkultur können wir diese auch für die Hefezählung verwenden an Stelle der bisherigen Hefezählkammern. Es ist nur erforderlich, dafs man einmal festgestellt hat, welches Volumen die Flüssigkeit in den 30 Strichen darstellt. Wir würden dies in einfacher Weise feststellen können, indem wir gleichzeitig mit demselben Bier eine Tröpfchenkultur ansetzen und die Hefezählkammer beschicken. Wir bestimmen, in wieviel Volumeneinheiten dieselbe Zellenzahl vorhanden ist, welche in den 30 Tröpfchen sich vorfindet. Der gleichen Zellenzahl entspricht das gleiche Volumen. Um die Striche möglichst gleichmäfsig anlegen zu können, wird zu empfehlen sein, auf der Deckgläschenoberfläche erst einen Strich von bestimmter Länge, vielleicht 1,5 oder 2 mm, mit Tinte vorzuzeichnen.

Wir könnten auch so verfahren: Wir verteilen von einer Hefe 1 g in 1 Liter Wasser und machen eine Tröpfchenkultur. Die Zahl der Zellen, welche wir durch Untersuchung sämtlicher 30 Striche ermitteln, würde uns eine Norm abgeben, nach der wir sofort die Gewichtsmenge Hefe in einem Liter einer andern Bierprobe von derselben Hefe berechnen könnten. Z. B.: wir finden in einer Zwickelprobe von 4 Wochen altem Bier 50 Zellen in 30 Strichen, in einer Zwickelprobe desselben Fasses nach 8 Wochen 5 Zellen, in einer Mischung von 1 g der angewandten Kulturhefe in 1 Liter Wasser 200 Zellen, so können wir sagen: In der ersten Zwickelprobe sind in 1 Liter Bier $\frac{200}{50}$ g, in der zweiten Probe $\frac{200}{5}$ g Hefe (in gepreſstem Zustand gerechnet) enthalten. — Wären die in den Tröpfchenkulturen gefundenen Hefen lauter wilde Hefen, dann können wir nicht sagen, dafs im Liter $^1/_4$ oder $^1/_{40}$ g wilde Hefen enthalten sind, da ja eine Kulturhefezelle schwerer ist als eine wilde.

Wie man mit Hilfe der Tröpfchenkultur eine systematische Untersuchung der Vegetationsverhältnisse im Verlauf der Gärung durchführen kann, möge nachfolgendes Beispiel zeigen.

Eine Brauerei arbeitete mit einer schwach vergärenden Klumphefe und einer stärker vergärenden Dortmunder Abstammung. Achttägiges Bottichbier von der letzteren ergab in 40 Tropfen 250 Zellen normale Hefe und 1 wilde. Die Zahl der normalen Hefe dürfte etwas zu niedrig sein, da die flockenbildenden Hefen leicht an der Feder haften bleiben und nicht sogleich in das Tröpfchen fliefsen. Elftägiges Bottichbier von der schwachen Hefe gab in 38 Tropfen 120 normale und 9 wilde Hefen. Zu gleichen Mengen gemischtes Bier von beiden Hefen ergab nach 3½wöchentlicher Lagerung auf dem Fafs in 53 Tröpfchen 4 normale, 3 Torula-artige, 7 wilde Hefe. Ein gleiches Bier von 7½ Wochen gab in 45 Tropfen 4 Torula- und eine wilde sporenbildende Hefe; erstere vermehrte sich bis auf 20000 Zellen pro Tropfen.

Dieselbe Brauerei hat später auf meine Anregung hin neben Mischbieren auch Biere von jeder Hefe allein geschlaucht, desgleichen hat der Braumeister in dankenswerter Weise mich mit fortlaufenden Probesendungen versehen, so dafs ich über die Zu- und Abnahme der Hefen während der Nachgärung genaue Vergleiche anstellen konnte. Die Stammwürze betrug 12,5 % Balling. Hefengabe 0,6 Liter dickbreiige Hefe pro Hektoliter. Temperatursteigerung im Bottich bis 7° R., darauf 3 Tage gehalten, dann langsam abgekühlt und am 10. Tage bei grobgriesigem Bruch und einem scheinbaren Vergärungsgrad von 47,2 und 57,6 % geschlaucht. Die Fässer wurden mit 3tägigen Zwischenräumen in 10 Tagen vollgeschlaucht. Aus der Mitte jeden Fasses wurden mittelst eines sorgfältig gereinigten Hebers regelmäfsig die Proben entnommen, die dann auf Vergärung und Hefenzahl untersucht wurden. Das letztere geschah erst am folgenden Tage, nachdem die Proben in Berlin angekommen waren. Bier I ist von der schwach vergärenden, Bier II von der Dortmunder Hefe. Bier III ist eine Mischung von I und II zu gleichen Teilen.

(Siehe Tabelle S. 260.)

Die Erwartung, dafs das am schwächsten vergorene Bier während der Nachgärung am schnellsten in der Saccharometeranzeige fallen würde, hat sich nicht bestätigt. Die Zahl der wilden Hefen ist in beiden Bieren ziemlich gleich befunden worden. Bier III hat erst auf der Flasche die Sacharometeranzeige von Bier II erreicht; es ist am meisten in der Saccharometeranzeige gefallen.

Von den Fässern war nach dem Abziehen der Biere auch Geläger und Hefe von den Spänen eingesandt worden.

Hier überwog die normale Hefe um das 10—20fache die wilde an der Zellenzahl, an Masse vielleicht um das 30—60fache. Das Geläger war übrigens an wilden Hefen reicher als die Hefe von den Spänen, was dadurch erklärlich ist, dafs beim Abziehen des Bieres die lose

Tabelle über den Verlauf der Vergärung und die Zellenbefunde.

	Bier I				Bier II				Bier III				Bemerkungen
	° Bll.	in 35 Tröpfchen sind			° Bll.	in 35 Tröpfchen sind			° Bll.	in 35 Tröpfchen sind			
		Hefe-Zellen				Hefe-Zellen				Hefe-Zellen			
		wilde	normale	Bakterien		wilde	normale	Bakterien		wilde	normale	Bakterien	
Beim Schlauchen	6,6				5,8				5,9				Am 26. Juni wurde der Kohlensäuregehalt in den drei Bieren festgestellt:
Beim Vollsein der Fässer am 21. April 1894	6,4				4,8				5,4				
Probe vom 24. April	6,3				4,6				5,2				I . . 0,36 pCt.
„ „ 1. Mai	6,1	34	11	—	4,5	22	4	—	5,0	26	5	—	II . . 0,33 „
„ „ 8. Mai	6,0	18	4	—	4,5	3	0	—	4,9	5	1	—	III . . 0,47 „
	Fässer mit Spänen gestopft am 12. Mai												
„ „ 16. Mai	5,8	9	20	—	4,3	6	6	—	4,7	4	11	—	Am 7. Juli wurden die seit dem 18. Juni bei 12° R. aufbewahrten Flaschenbiere untersucht:
„ „ 22. Mai	5,7	1	1	—	4,3	3	0	—	4,7	0	0	—	
„ „ 29. Mai	5,6	0	3	—	4,2	1	2	—	4,4	0	0	—	
„ „ 5. Juni	5,3	6	1	—	4,1	5	3	—	4,3	4	1	—	
	am 8. Juni gespundet am 16. Juni abgezogen												I und III: Zarte Flocken suspendiert, Bodensatz mäfsig. Bier fast blank.
Probe v. Transportfafs 16. Juni	5,2	20	6	18	3,9	31	1	12	4,1	3	0	—	II Bier schleierig, beim Schütteln dick trübe.
Probe von den Flaschen 7. Juli	4,95	—	—	—	3,4	—	—	—	3,5	—	—	—	

sitzende wilde Hefe von den Spänen heruntergespült wird. Nach dem Spänestopfen steigerte sich die Zahl der wilden Hefe plötzlich; der Grund ist ein ähnlicher. Die auf dem Boden lagernden wilden Hefezellen wurden durch die Bewegungen im Bier zahlreicher emporgerissen als die normale Hefe.

Aus alledem geht hervor, dafs wir in den Hefezahlen nicht richtige Durchschnittszahlen bekommen haben, insofern die normale Hefe dabei viel zu wenig vertreten ist. Das ist zu berücksichtigen, wenn wir die Wirkung der wilden Hefe beurteilen wollen.

Bemerkenswert ist noch, dafs Bier II trotz der stärksten Vergährung auf dem Bottich am meisten wilde Hefen entwickelte und bedeutend weniger haltbar war als die beiden andern Biere. Hieran hat der geringe Kohlensäuregehalt die Schuld. Bier III mit dem höchsten Kohlensäuregehalt ist am wenigsten reich an wilden Zellen und zeigte die gröfste Haltbarkeit.

Was lehrt uns die Vermehrungsziffer, die wir bei den Tröpfchenkulturen gefunden haben? Bei einer durchschnittlichen Länge und Breite der Tröpfchen von 1,5 und 0,5 mm berechnet sich das Volumen von 35 solcher Streifen auf 5 cmm = $^1/_{300}$ ccm. Angenommen, die 35 Tröpfchen enthalten bei der Aussaat insgesamt 40 Zellen, so macht das pro ccm 40 × 200 = 8000 Zellen. Nach ca. 5 Tagen vermehren sich die wilden Hefen ungefähr auf das 3000fache in den Tröpfchen, selbst in ziemlich alten Bieren. In den 35 Tröpfchen entwickeln sich also insgesamt noch 3000 × 35 = 105000 Zellen, im ccm also 200 × 105000 = 21000000 Zellen. Wenn also in einem ccm Bier 8000 Zellen noch so viel Nahrung vorfinden, dafs 21 Millionen Zellen heranwachsen können, dann wird dadurch bewiesen, dafs unter den Verhältnissen der Praxis die mögliche Endvergärung noch lange nicht erreicht war[1]); ebenso wird daraus ersichtlich, dafs 8000 Zellen im ccm noch keine Massenwirkung ausüben können, die sich in der Saccharometeranzeige bemerkbar machen würde.

Im Jahre 1894 untersuchte ich ein Bier kurz vor dem Abziehen. Die Vergärung war gering gewesen, von 13,8 ungefähr bis auf 7° Balling. Im ccm liefsen sich mit der Plattenkultur 60000 Hefezellen konstatieren. Bei dieser Zellenzahl war das Bier durchaus blank und hielt sich im Sommer noch 5—6 Tage; dann erst trat ein kräftiger Bodensatz auf und machte sich eine Nachgärung geltend.

In diesem Jahr wurde aus derselben Brauerei Flaschenbier untersucht, das vom 16. März bis 22. April Zimmertemperatur gestanden hatte. Das Bier war noch völlig klar und hatte nur einen Anflug von Bodensatz. In demselben war wilde Hefe nur ganz sporadisch vorhanden; die griesigen Flocken gehörten der normalen Hefe an, der noch etwas Sarcina beigemischt war. In einem Fafsgeläger dieser Brauerei wurden auf 100 normale Zellen 8 wilde Zellen konstatiert, die an Masse etwa 3 normalen gleichkamen. Nach alledem kann man wohl zu keinem anderen Schlufs kommen, als dafs in den untergärigen Brauereien Deutschlands die Nachgärungshefen ihre Rolle erst auf der Flasche zu spielen beginnen. Eine kräftige Flaschengärung und damit eine merkliche Abnahme der Saccharometeranzeige setzt hier erst dann ein, nachdem ein dicker Bodensatz sich gebildet hat.

Zum Schlufs möchte ich eine Beobachtung mitteilen, die an dem Bier I vom 8. Mai in der Tröpfchenkultur gemacht worden ist. Von

---

[1]) Inwieweit nach dem Vergären der letzten Spuren Zucker die Hefe sich noch weiter vermehren kann durch Assimilation der übrigen noch vorhandenen Stoffe, darüber sind noch besondere Versuche anzustellen.

2 gleich grofsen Tröpfchen hatte das eine nach 3 Tagen 2000 wilde, das andere 600 normale Hefezellen ergeben. In einem dritten Tropfen waren 1 wilde und 1 normale Zelle gleichzeitig zur Aussaat gelangt. Nach 3 Tagen waren 600 normale und 800—1000 wilde Hefen zu zählen. Man ersieht hieraus den Einfluſs der Konkurrenz sehr gut.

Für Biere mit viel Keimen eignet sich zur schnellen Orientierung auch die Adhäsionskultur. Näheres siehe S. 265.

Eine ebenfalls sehr bequeme Art der Bierprüfung gestattet die „Röhrchenkultur". Wir halten uns kleine Röhrchen von ca. 7 mm grofsem Kaliber und 7 cm Länge mit passenden Korkstöpseln steril vorrätig. Zwickelproben können wir gleich in sie einfüllen. Wir legen die Glasröhrchen, die bis auf einen kleinen Luftraum gefüllt sind, auf eine schwach geneigte Unterlage, lockern den Kork und klemmen oben ein feines Kapillarröhrchen zwischen diesen und die Glaswandung. Hierdurch soll die noch etwa sich entwickelnde Kohlensäure entweichen und gleichzeitig etwas Luft eintreten können. Wir werden hier nach einigen Tagen deutliche Hefenklümpchen oder Flecken an der unteren Glaswand zur Entwicklung kommen sehen. Indem wir uns den Inhalt des Röhrchens ausmessen und die Zahl der Flecken damit vergleichen, können wir leicht wieder den Keimgehalt pro Kubikcentimeter berechnen. Diese Methode zeigt auch deutliche Unterschiede in dem Aussehen der Flecke. Die untergärige Kulturhefe bildet kleine griesige Körnchen, die meisten wilden Hefen breitere Flecken, die bei einer rollenden Bewegung des Gläschens staubig sich verteilen. Für zellenreiche Bierproben eignet sich diese Methode nicht gut, weil die Hefenflecke zu dicht wachsen.

Eine in gleich einfacher Weise auszuführende Methode ist die flüssige Plattenkultur. Wir gieſsen eine bestimmte Menge des klaren Bieres (auch die noch nicht angestellte Bottichwürze wird man so untersuchen können) in eine sterile Glasschale, deren Boden möglichst eben ist. Die Bierschicht sei nur einige Millimeter hoch. Die Hefenzellen setzen sich ruhig ab und bilden auf dem Boden nach einigen Tagen Hefenflecke oder sie treten als Kahmhäute an die Oberfläche. Namentlich zum Nachweis von Kahmhefen und Essigbakterien ist diese Methode sehr geeignet. Zum Bakteriennachweis ist diese Methode ebensowenig geeignet wie die vorige, sofern es sich um bewegliche Bakterien handelt, die überall hin sich verteilen. Selbstverständlich muſs die Kultur vor Infektion und Verdunstung geschützt werden.

Eine feste Plattenkultur erhalten wir, wenn das Bier oder die Würze vor dem Ausgieſsen in die Schalen mit einer Nährgelatine vermischt worden ist. Hier wachsen Kolonien heran, die ihren Ort nicht verändern können. Solche Kulturen sind auch transportfähig. Um eine

bequeme Zählung zu ermöglichen, hat Lafar aufsen auf den Petrischälchen besondere Einteilungen anbringen lassen.

Das Aussehen der einzelnen Kolonien ist mitunter sehr charakteristisch. Cuboni, Fischer und Brebeck haben von solchen interessanten Wachstumerscheinungen Abbildungen gegeben.

Wenn wir im Lagerfafs Proben aus verschiedenen Schichten entnehmen wollen, müssen wir uns nach einem geeigneten Instrument umsehen. Wir benutzen hier mit Vorteil eine ca. $1^1/_2$—2 m lange Glasröhre mit ca. 5 mm lichter Weite, die an beiden Enden je einen Gummischlauch trägt. Der obere Gummischlauch wird nach der Sterilisation, welche durch Durchleiten von Dampf am besten bewirkt wird, mit einem Wattefilter verschlossen; um den unteren wird ein langer Zwirnsfaden geschlungen. Ehe wir das Glasrohr in das Lagerfafs eintauchen, ziehen wir den Faden fest an, damit der Gummischlauch sich knickt. Erst in der Tiefe lassen wir den Zwirnsfaden locker. Nun tritt das Bier ein. Nach der Füllung der Röhre wird der Zwirnsfaden wieder angezogen. Im Laboratorium legt man die Röhre horizontal hin. Die festen Bestandteile des Bieres setzen sich bald ab, und da, wo eine Hefenzelle war, bildet sich nach einigen Tagen ein Hefenfleck.

Ein Präparat vom Bodensatz zeigt uns die zwischen den groben Hefeflecken vorhandenen Beimengungen, wie Eiweifsgerinnsel, Hopfenharz, wilde Hefezellen und geschwächte, nicht mehr klebkräftige Kulturhefezellen, sowie auch Bakterien. Letztere sind allerdings nur schwer zwischen der Unmenge von kleinen Hopfenharzkügelchen u. s. w. zu erkennen.

Diese Methode können wir aber auch benutzen zur Untersuchung der in der Würze vor dem Anstellen mit Hefe suspendierten Bestandteile.

Untersuchung der gewöhnlichen Anstellhefe.

Nachdem wir die Vegetationen im Bier und in der Würze kennen gelernt haben, wird uns auch die Untersuchung der gewöhnlichen Anstellhefe keine grofsen Schwierigkeiten bereiten.

Wir verfahren dabei zunächst wie bei der Untersuchung der Hefe aus dem Reinzuchtapparat (S. 249). Wir verschaffen uns eine gute Durchschnittsprobe aus der Hefenwanne und machen mehrere mikroskopische Präparate mit und ohne Natronlauge. Um bei dem Absuchen des Präparates durch Flüssigkeitsströmungen nicht gestört zu werden, empfiehlt es sich, den Rand des Deckgläschens mit einem dünnen Vaselinrand zu umziehen; dieser hindert auch das schnelle Eintrocknen.

Das mit Natronlauge behandelte Präparat zeigt keine Entwicklung mehr; das andere ohne Natronlauge, in welchem den Hefezellen nur etwas Wasser oder die anhaftenden Extraktstoffe aus dem Bier zur Verfügung stehen, zeigt nach einiger Zeit deutliche Veränderungen.

Die normale Hefe behält fast wochenlang ihr ursprüngliches Aussehen; ein Aussprossen derselben kommt kaum noch vor.

Dagegen tritt allmählich an solchen Stellen, wo eine Torulahefe oder eine Kahmhefe oder eine andere wilde Hefe untermischt war, eine Neubildung von Zellen ein; es bilden sich kleine Nester mit Hunderten von Zellen, die je nach der Hefenart ein verschiedenes Aussehen bekommen. Schimmelpilzsporen keimen zu langen Schläuchen aus, gehen jedoch zumeist früh zu Grunde.

Die Mehrzahl der für die Brauerei schädlichen wilden Hefen kann eine Zeit lang noch wachsen. Das Plasma der wilden Hefe ist die erste Zeit auffallend gleichmäfsig, fast körnchenfrei; der Verband der Zellen ist ein sehr loser, und trifft man daher nach einiger Zeit einzelne Zellen vom Entwicklungscentrum weit abliegend vor.

Was die Bakterien anlangt, so tritt an solchen Stellen, wo einige Luftblasen mit ins Präparat gelangt sind, eine Ansammlung meist sehr beweglicher Arten auf. Einzelne Arten wachsen in langen, mehr oder weniger geknickten Fäden oder Perlschnurreihen über das ganze Präparat weg, andere wieder wachsen zu klumpenartigen Nestern heran, so die Biersarcina.

Will wendet zur Untersuchung der gewöhnlichen Brauereihefe folgendes Verfahren an: Eine gröfsere Menge Hefe wird in Würze gegeben und etwa 24 Stunden bei 25 ° belassen. Einige ccm der noch trüben Würze gieſst man alsdann in frische Würze über und verfährt nach 24 Stunden in gleicher Weise wie das erste Mal. Die Absicht dabei ist, etwa vorhandene wilde Hefe, welche gegen Schluſs der Gärung noch in der Würze suspendiert ist, mehr und mehr in den Vordergrund zu schieben. Je stärker die Infektion ist, desto rascher wird uns das mikroskopische Bild die wilde Hefe erkennen lassen. Die Zahl der Überimpfungen, welche hierzu notwendig ist, gestattet uns, bis zu einem gewissen Grade auf die Stärke der Infektion zu schlieſsen.

Auch hier tritt zum Schluſs der Überimpfungen die Kontrolle durch die Sporenkultur ein.

Verfasser untersucht die Anstellhefe in der für die Kontrolle der Reinzuchthefe angegebenen Weise in Tröpfchenkulturen; die Hefe wird vorher mit sterilem Wasser und wenig Würze verrührt und in Strichform aufs Deckgläschen aufgetragen, oder er benutzt die sogenannte Adhäsionskultur[1]). Diese besteht darin, daſs man die Hefenflüssig-

[1]) Diese Methode eignet sich für die verschiedensten Untersuchungen, besonders da, wo man die Entwicklung von Keimen im natürlichen Substrat kennen lernen will; also zur Untersuchung des Speichels, von frischer Milch, von Urin u. dgl. mehr.

keit über die ganze Fläche des Deckgläschens in dünner Schicht aufträgt und letzteres über die Höhlung des Objektträgers legt. Damit auch hier einer Verdunstung vorgebeugt wird, umzieht man die vier Seiten des Deckgläschens mit Vaseline in Form eines Quadrates. Der Objektträger wird so gelegt, dafs die Höhlung unten ist, dafs also die adhärierende Schicht nicht hängt, sondern liegt. Der Vorteil dieser Präparate ist, dafs sich alle Entwicklung in einer völlig ebenen Fläche vollzieht, und dafs der gegenseitige Einflufs benachbarter Kolonien abgeschwächt wird. Wir erhalten mit dieser Methode überaus übersichtliche Bilder, in denen häufig der genetische Zusammenhang mit der

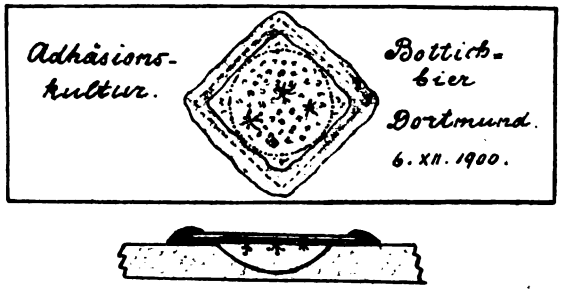


Abb. 113a. Adhäsionskultur.
Die keimhaltige Flüssigkeit ist über das ganze Deckgläschen in dünner Schicht ausgebreitet.

Mutterzelle noch deutlich erkennbar ist. Weiterhin kann man hier manchmal genauere morphologische Studien machen, die andere Methoden nicht so leicht gestatten. So hat Verfasser bei Anwendung dieser Methode mit gröfster Deutlichkeit konstatieren können, dafs Pediococcen eine deutliche Schleimhülle besitzen resp. zeitweise ausbilden können. Besonders instruktiv gestaltet sich das Bild solcher Hefekolonien, welche sehr zur Sporenbildung neigen. Die Tafeln am Schlusse des Buches werden uns einige Bilder aus diesen Adhäsionskulturen vorführen.

Was hier von der Untersuchung der Brauereihefen und Gärungsflüssigkeiten gesagt ist, gilt in gleicher Weise auch für die Untersuchung von Hefen und Würzen oder vergorenen Maischen aus Brennereien oder Preſshefenfabriken. Auch für diese ist die Tröpfchen- und Adhäsionskultur ein ausgezeichnetes Hilfsmittel zur Orientierung über die Zusammensetzung der Vegetation.

Infektionsquellen im Betriebe.

Die verschiedenen Örtlichkeiten bieten der Ansiedlung von Organismen mehr oder weniger günstige Bedingungen. Auch wenn sie sämtlich dieselben Keime von aufsen zugeführt erhielten, an dem einen Ort würden sich diese, an einem zweiten jene Arten vorwiegend entwickeln. Wenn wir Luftcylinder an verschiedenen Orten aufstellen, auf dem Feld, im Hopfen- oder Obstgarten, in Pferdestallungen, im Hühner- oder Taubenschlag, auf dem Getreideboden und der Malztenne, im Hopfenlager, im Gärkeller, Lagerkeller, in der Trebertrockenanstalt, in Ventilationsschächten u. s. w., können wir mitunter überall dieselben Keime finden, wenngleich in sehr verschiedener Menge. Finden wir an zwei Örtlichkeiten annähernd dasselbe Mischungsverhältnis der einzelnen Arten, dann werden wir annehmen können, dafs zwischen ihnen besondere Beziehungen bestehen. Zeigt uns z. B. ein Luftcylinder, den wir an einer sehr befahrenen Strafse aufgestellt haben, die nämliche Vegetation wie ein Luftcylinder, der gleichzeitig auf dem Kühlschiff gestanden hatte, nur dafs hier in der gleichen Zeit vielleicht nur der dritte Teil der Keimzahl eingefangen ist, dann ist, zumal wenn das Mischungsverhältnis der einzelnen Arten annähernd das gleiche ist, die Annahme gerechtfertigt, dafs das Kühlschiff von dem Strafsenstaub infiziert worden ist. Der Nachweis eines solchen Zusammenhanges wird um so leichter zu erbringen sein, je mehr Keime eingefangen und zur Entwicklung gekommen sind. Wir werden daher auch gut thun, die Luftcylinder mit einer solchen Nährgelatine zu beschicken, in der möglichst viele Arten angehen. Also auch ganz harmlose Keime, die nicht einmal in Würze oder in Bier zur Entwicklung kommen, können uns zu den Infektionsquellen hinleiten. Sie sind für uns von ähnlicher Bedeutung wie für den Geologen etwa die Leitfossilien, die ihm, auch wenn sie in noch so geringer Anzahl vorhanden sind, die Zugehörigkeit der betreffenden Gesteinsschicht zu dieser oder jener geologischen Formation verraten. Die Vegetation einer bestimmten Örtlichkeit behält oft auf Jahre hinaus so ziemlich die nämliche Zusammensetzung; dabei kann es aber leicht der Fall sein, dafs in anderen Betrieben die betreffenden Örtlichkeiten wieder andere Vegetationen aufweisen. Auf der einen Malztenne kann z. B. ein schwarzgefärbter, auf der anderen wieder ein grüngefärbter Schimmelpilz die Oberhand behalten. Durch welche besonderen Umstände eine solche Verschiedenartigkeit der Vegetation bedingt ist, ist oft schwer zu sagen.

Als Grundprinzip bei baulichen Anlagen im Gärungsgewerbe mufs gelten, dafs diejenigen Räume, in welchen viel keimhaltiges Material aufgespeichert liegt, möglichst von solchen, wo Maischen oder Würzen oder

Bier, Hefe oder Wasser mit der Luft in Berührung kommen, abgelegen sein müssen. Ist dies undurchführbar, dann muſs wenigstens für eine genügende Isolation gesorgt werden (dichte Verschläge an Wasserreservoiren, festes Verschlieſsen der Fenster der Schrotmühlböden nach der Kühlschiffseite, verschlossene Kühlschiffe). Da für jeden einzelnen Betrieb wegen der besonderen baulichen Anlagen specielle Vorschriften nötig sind, können wir die Infektionsfrage hier nur von allgemeinen Gesichtspunkten aus behandeln.

Eine unendliche Anzahl von Keimen kommt mit den Rohmaterialien in den Betrieb. Das Getreide wächst auf einem Acker, welcher gedüngt worden ist. Dünger ist ein ganz vorzüglicher Nährboden für die verschiedensten Organismen und ein groſser Prozentsatz seiner Masse sind Bakterienleiber. Die Bakterien, Hefen und sonstigen im Dünger enthaltenen Keime sterben nicht so leicht ab, sondern bleiben noch monatelang auf dem Acker lebensfähig, ja vermehren sich mitunter noch stark. Caron hat den Bakteriengehalt eines und desselben Feldes in verschiedenen Jahren bestimmt und gefunden pro ccm Boden

	nach Schwarzbrache	Klee	Hafer	
Herbst 1892	10—15	5	1—2	Millionen
„ 1893	8—10	5—6	1—1,5	„
„ 1894	2—3	?	0,5—1	„
„ 1896	3—3	2—3	0,4—1	„

Zur Zeit der Ernte nun, wo die Ähren sich entwickelt haben, wo ziemliche Trockenheit, ziemlich viel Zugluft und Wind herrscht, wird die ganze Oberfläche des Feldes staubig aufgewirbelt, und alle jene Keime, welche mit dem Dünger auf den Acker gebracht worden sind, oder ihre Nachkommen arbeiten sich jetzt mit dem Staube in die Luft empor. Nun sind gerade die Ähren des Getreides mit ihren Grannen ausgezeichnete Fangapparate; dienen sie doch mit dazu, den zur Zeit der Blüte aus den Staubbeuteln herausgefallenen und vom Wind verstreuten Blütenstaub (Pollenkörner) aufzufangen[1]). So kommt es, daſs innerhalb der Ähre die einzelnen Körner mehr oder weniger mit Staubteilen verunreinigt werden. Die mechanische Reibung beim Dreschen des Getreides reicht bei weitem nicht hin, um alle Keime zu entfernen, setzt sich doch ein groſser Teil der Staubwolke auf den Körnern ab.

[1]) Aufserdem erfüllen die Grannen noch andere Funktionen, sie befördern durch ihre Oberfläche die Verdunstung von Wasser und machen einen entsprechenden Ersatz von der Wurzel aus nötig. Mit diesem Wasserstrom gelangen aber eine Menge unterwegs in Lösung gebrachter Nährstoffe mit in die Ähren, und die Körner können sich daher reichlich mit Reservematerial versehen, das später wieder dem jungen Keimling zu gute kommen soll. Auch als Taufänger dürften sie, namentlich in trocknen Gegenden, eine Bedeutung haben.

Selbst da, wo man das Getreidė weiter verarbeitet und reinigt, ist es absolut unmöglich, sämtliche Keime zu entfernen; auf jedem Korn bleiben Hunderte und Tausende von diesen Organismen sitzen. Besonders stark infiziert wird ein Getreide sein, welches vor der Ernte stark beregnet ist. Das Wasser dringt sogar zwischen die Spelzen und die Fruchtschale und giebt bei längerem Verweilen den verschiedensten Keimen Gelegenheit, die aus den Hüllen des Korns ausgelaugten Extraktstoffe zur Vermehrung zu benutzen. Beim späteren Eintrocknen wird sich dann der Keimhaufen vermöge der klebrig-schleimigen Beschaffenheit der Zellmembranen auf den Hüllen geradezu festkleben. Man findet auch öfter ganz schwarze Körner, die aufsen von einer mehr oder weniger zusammenhängenden Schicht von Rufstaupilzen bedeckt sind. In diesem Fall ist das Auftreten von Blattläusen auf der Gerste die besondere Ursache. Wenn nun auch eine längere Regenperiode eine Vermehrung vorhandener Keime nach sich zieht, so ist dieselbe doch im allgemeinen nicht so arg, als wenn das Getreide nach dem Einbringen bei Regenwetter feucht lagern mufs oder wenn die Körner womöglich erst milchreif oder gelbreif geerntet wurden. Abgesehen von den Verlusten, die durch die energischere Atmung in feuchten Körnern eintreten, vergröfsert sich die Gefahr des Verschimmelns und Verfaulens. Einen Begriff von der ungeheuren Vermehrungsfähigkeit der Keime erhält man, wenn man z. B. eine frische, schon ganz trocken aussehende Ähre in ein grofses Reagenzglas bringt und mit einem dichten Wattepfropf verschliefst. Nach einiger Zeit wird man auf den Grannen sogar ganze Zoogloen mit Milliarden von Bakterienzellen auftreten sehen, Amöben werden dazwischen wuchern und in gleicher Weise auch Schimmelpilzfäden. Es versteht sich von selbst, dafs Getreide von verschiedenen Standorten, je nach der Beschaffenheit des Bodens, je nach der Düngung, uch ganz verschieden infiziert sein wird.

Hoffmanns Untersuchungen einer gröfseren Anzahl Getreideproben verschiedenster Herkunft haben bei Benutzung von Fleischsaftagar, Fleischsaft- und Würzegelatine Zahlen ergeben, die zwischen 7000 und 1 Million pro 0,1 g Getreide schwanken. Aus der Umgegend Berlins bezogene Gerste liefs bei einem Versuch pro 1 g 403200 Keime auf Fleischsaftagar zur Entwicklung kommen, unter denen 6400 die Gelatine verflüssigten. Von ebendaher ergab:

Hafer	469600	Keime,	darunter	12160	verflüssigende,
Roggen	80000	„	„	3400	„
Weizen	61000	„	„	38000	„

Eine tadellos gereinigte gesunde Gerste, welche von halben und verdächtigen Körnern frei war, gab doch noch 20000 Keime, welche auf Fleischsaftgelatine wuchsen. Dieselbe Gerste in einer Blechbüchse ver-

wahrt gab 3 Monate später nur noch 112 Keime. Diese Zahl ist die geringste bisher auf Gerstenproben gefundene.[1])

Begleiten wir einmal das Getreide und speciell die Gerste auf dem Wege durch die Brauerei! In dem Quellstock, wo das Getreide mit Wasser zusammenkommt, werden auf einmal ganz neue Bedingungen geschaffen. Alle durch die Trockenheit in ihrer Lebensthätigkeit vorläufig suspendierten Keime erwachen durch die Gegenwart der Feuchtigkeit wieder zu neuem Leben und vermehren sich massenhaft, da das

---

[1]) Die Versuche wurden so ausgeführt, dafs je 7,5 g Körner mit 300 ccm Wasser eine halbe Stunde lang unter häufigem Umschütteln stehen gelassen wurden. Ein Tropfen (= 1/30 ccm) davon wurde zum Agar- resp. Gelatineröhrchen hinzugefügt und der Inhalt nach tüchtigem Umschütteln in eine sterile Petrischale gegossen und dort erstarren gelassen.

Bei Anwendung des Gelatinenährbodens, der zur Unterscheidung der Kolonien geeigneter ist als der Agarnährboden, macht sich die Gegenwart verflüssigender Bakterien recht lästig, da sie binnen kurzer Zeit die ganze Gelatineplatte zerstören. Einen Ausweg bietet hier die Anwendung des bei der Lindnerschen Tropfenkultur befolgten Prinzips, das Nährsubstrat in einzelne Tropfen zu zerlegen. Also man wird z. B. einen Teil der bakterienhaltigen Gelatine in die untere Petrischale ausgiefsen, einen anderen Teil aber auf die Innenseite der Deckelschale in Tropfenform auftragen.

Bei nicht zu starkem Keimgehalt wird man eine grofse Anzahl Tropfen bekommen, in denen verflüssigende Bakterien fehlen. In diesen Tropfen werden also die Kolonien ungestört sich entwickeln können und auch gut abimpfen lassen. Man kann zum Beschicken der Deckelhälfte mit dem Gelatinerest auskommen, welcher beim Ausgiefsen in die untere Schale im Gelatineröhrchen zurückgeblieben war. Bei einiger Geschicklichkeit kann man die Tropfen mit dem Rand des Gelatineröhrchens fast ebenso regelmäfsig auftragen, als mit einer Pipette. — Hoffmann hat neben diesem ebenso einfachen wie praktischen Verfahren noch ein anderes ausgearbeitet, welches zur Herstellung verschiedener Verdünnungen die Anwendung ebenso vieler Gelatineröhrchen überflüssig macht. Mit einem einzigen solchen kommt er vollkommen aus für 6 und noch mehr Verdünnungen.

Zur Verdünnung benutzt er Gläschen, in denen steriles Wasser eingefüllt ist. In einem derselben wird die erste Verdünnung vorgenommen; nach der Mischung werden wenige Tropfen in das nächste Gläschen gegeben. Hier wird wieder tüchtig geschüttelt, und einige Tropfen davon werden in das nächste Gläschen gegeben und so fort. Das letzte Gläschen bekommt so die geringste Anzahl Keime. Nun werden sämtliche Gläser ausgegossen und zu dem zurückbleibenden Rest des letzten flüssig gemachte Nährgelatine gegeben, die nach tüchtigem Schütteln dann in das vorletzte Gläschen übergossen wird; mit dem Rest werden Tropfen in der Petrischale angelegt. Ähnlich geht es nun weiter, bis das erste Gläschen mit der gröfsten Anzahl Keime ebenfalls an die Reihe kommt. Hierin kann man die ganze Gelatine erstarren lassen und die Unterschiede in der Kolonienbildung an der Oberfläche und in gröfserer Tiefe studieren, wie auch beobachten, ob Gasentwicklung sich einstellt. Die nur einen ganz schwachen Gelatinerest haltenden Gläschen legt man verschlossen beiseite, da sich in ihnen auch noch Kolonien bilden können, die bei der dünnen Glaswandung der Röhrchen der mikroskopischen Beobachtung leicht zugänglich sind.

Weichwasser organische Substanzen gelöst enthält. Trotzdem mit dem Ablassen des Weichwassers eine Unmenge Keime wegkommen, zeigte eine quellreife Gerste immerhin noch 124000 Keime auf 0,1 g. Mit solchem Keimgehalt kommt das Getreide nun auf die Malztenne resp. Trommeln resp. Keimkästen. Das Weichwasser selbst bekommt bei längerem Stehen einen stark unangenehmen Geruch, der jedenfalls hauptsächlich auf die Thätigkeit eines Termobakteriums (Proteus hominis) zurückzuführen ist. Während der Weiche werden Gase, wahrscheinlich Kohlensäure, Wasserstoff und Sumpfgas, entwickelt. In einem Glasrohr mit Wasser und Gerste zeigte sich an einem warmen Sommertage eine solche Entwicklung von Gas, dafs das Wasser in der Röhre um 10—15 cm stieg und überfloſs, während sich zwischen den Gerstenkörnern die Gasblasen festsetzten.

Auf der Malztenne ist eine höhere Temperatur, genügende Feuchtigkeit und auch genügend Luft zur Entwicklung aller Keime gegeben. Über den Keimgehalt des Malzes liegen keine Zahlen vor, doch hat Verfasser wiederholt darauf aufmerksam gemacht, wie namentlich die gelben schleimigen Wurzelhauben Ansiedelungspunkte für Bakterien- und Hefenkolonien sind, die ihrerseits Tausende und Millionen von Individuen einschlieſsen.

Bei einem Versuch von Hoffmann, wobei die Keimung einer mit sterilem Wasser behandelten quellreifen Gerste in zwei langen Glasröhren durchgeführt wurde — mit Lüftung und ohne Lüftung —, kamen in der gelüfteten Probe auf 0,1 g 27—220 Millionen Keime (darunter bis 26 Millionen anaërobe), in der nicht gelüfteten 15—40 Millionen Keime zur Entwicklung.

Von diesen Keimen werden viele durch den Darrprozefs nicht getötet, sondern nur konserviert, und wenn man nachher anfängt das Malz zu schroten, so fliegen sie wieder auf und teilen sich der Luft mit. Ein Teil der Keime entgeht also dem Verderben im Sudhause, und wir werden sehen, dafs gerade dieser vorläufig beiseite geschobene Teil der Organismen später an verschiedenen Stellen einen verderblichen Einfluſs ausüben kann.

Wenn das Malz bei dem Sudprozefs verbraucht worden ist und als Rückstand in Form von Trebern gewonnen wird, so wird das Getreide auch in dieser Form nochmals ein Nährboden für Organismen aller Art. Die beim Maischen noch nicht abgetöteten Keime — ein Teil der Maische bleibt ja im Maischbottich und kommt nicht in die Maischpfanne — kommen dann auf diesem Nährboden kräftig zur Entwicklung und vermehren sich ins Ungeheure. Die Treber werden zwar dann durch Abfuhr beseitigt, aber bei dieser Abfuhr ist bemerkenswert, dafs es aus allen Ritzen und Fugen der Wagen herausregnet, als wenn ein Sprengwagen über den Brauereihof führe. So wird die ganze Oberfläche des

letzteren durch die von den Trebern herabträufelnde Flüssigkeit infiziert. Es braucht dann blofs ein trockner Wind zu kommen, der das Wasser wegnimmt, so bleiben die Keime eingetrocknet und konserviert auf dem Hofpflaster liegen. Wenn auf dem Hofe viel gefahren und viel gegangen wird, dann löst sich die Oberfläche los und wirbelt in Form von Staub auf. Befindet sich ein Kühlschiff in der Nähe, so wird dieses mit einer ganzen Menge Keime bestäubt.

Bei dieser Gelegenheit sei noch erwähnt, dafs die Trebertrockenapparate auch nicht alle Keime töten, und dafs man daher sich hüten mufs, solche Apparate in der Nähe von Kühlschiffen aufzustellen; die durch die Trocknung wieder so recht zum Fluge vorbereiteten Organismen verstäuben in der Luft, mit der sie dann leicht auf das Kühlschiff oder in die Gärräume gelangen können.

Zunächst also ist das Getreide eine Infektionsquelle. Aber nicht nur das Getreide spielt diese Rolle, alle vegetabilischen Substanzen, die in der Brauerei zur Verwendung kommen, z. B. Heu, Stroh und Hopfen, verhalten sich ähnlich. Auch sie stammen vom Felde und haben dort ähnlich wie das Getreide ihre Infektion erhalten. Sind nun in der Brauerei grofse Pferdehaltungen und Ställe vorhanden, so kommt das Keimmaterial, das auf dem Heu und Stroh gesessen hat, hier zur Verstäubung. In den Ställen fallen die Sporen nieder, mischen sich mit den im Dünger schon sehr reichlich vorhandenen Keimen und vermehren sich hier noch ins Unendliche. Wir wollen noch einen Schritt weiter gehen: Der Dünger wird wieder aufs Feld getragen und dort ausgebreitet. Man erlebt es sogar, dafs der Dünger, ehe er aufs Feld gelangt, getrocknet wird; man wirft ihn z. B. auf Dächer und läfst ihn dort trocknen, wobei zuweilen die Dächer in derselben Höhe wie die Kühlschiffe und in deren unmittelbarer Nähe sich befinden. Der auf dem Felde ausgebreitete Dünger trocknet ein und der Kreislauf beginnt von neuem. Der Staub von gedüngten Äckern, von Strafsen, auf denen ein grofser Vieh- und Wagenverkehr stattfindet, ist schon für manche Brauerei schadenbringend gewesen. Brauereien, die gleichzeitig Landwirtschaft treiben, haben auch mit dem Staub von Dreschmaschinen und von Feldfrüchten (z. B. Kartoffeln und Rüben) zu rechnen.

Eine besondere Beachtung ist in Betrieben, die in keimreicher Umgebung sich befinden, auch den Luftschächten zu widmen, da hier den Keimen Gelegenheit geboten ist, sich an den rauhen Wänden abzusetzen. Entsteht nun einmal ein kräftigerer Zug, so werden sich ganze Wolken von Keimen ablösen. Senklöcher bilden weniger eine Infektionsgefahr, weil in ihnen die Luft immer mit Feuchtigkeit gesättigt ist und die Keime nicht ganz austrocknen können. Sie sind mehr zu fürchten wegen der übelriechenden Gase, Sumpfgas, Schwefelwasserstoff u. s. w., die leicht von dem Bier oder der Würze oder dem Malz auf der Tenne an-

gezogen werden. Hier ist die Thatsache zu erwähnen, dafs die Luft in den Kanalisationsanlagen grofser Städte trotz des schlechten Geruches fast keimfrei ist; auch die feuchte Luft, die wir aus den Lungen ausatmen, und der Hauch aus dem Mund enthalten keine Keime, wenn nicht Speichel darin zerstäubt vorkommt.

Vorhin wurde von der aufserordentlichen Keimhaltigkeit des Düngers gesprochen. Das bezieht sich nicht blofs auf Pferdedung, sondern auch auf den Dung von Kuhställen, sogar auf den Dünger, der in Taubenschlägen und Geflügelställen sich vorfindet. Luftuntersuchungen haben gezeigt, dafs namentlich Taubenschläge aufserordentlich viel Sarcinabakterien enthalten. Wenn die Tauben längere Zeit in dem Schlage gewesen sind und dann auffliegen, so kann man sich vorstellen, dafs eine grofse Anzahl von Sarcinabakterien, welche auf ihrem Gefieder abgelagert waren, beim Fluge auf den Hof der Brauerei herniederregnen. Aber nicht genug damit: die Taube setzt sich auch überall auf die Dächer, sie setzt sich auch auf das Kühlschiffdach; — kurz, es wird erklärlich sein, dafs auch solche anscheinend nebensächlichen Dinge, die man leicht übersieht, ihre Bedeutung haben können.

Bei allen diesen Infektionen durch die Luft spielt eine grofse Rolle die Windrichtung. Der eine Brauer sagt: bei Ostwind habe ich keine Gefahren auf dem Kühlschiff zu bestehen, aber bei Südwind ist die Würze in kurzer Zeit verdorben; der andere sagt, bei ihm sei es umgekehrt. Das ist leicht zu erklären; es kommt darauf an, auf welcher Seite des Kühlschiffes die Infektionsherde sich befinden. Befinden sie sich nördlich, so wird der Nordwind gefährlich sein; befinden sie sich südlich, so werden die auf der Südseite aufgestapelten Keime einfach weggeführt.

Aufser dem Wind sind es Insektenschwärme, welche auf Kühlschiffen häufig Unmengen von Keimen einschleppen, insbesondere dann, wenn sie selbst in der Würze ersoffen sind. Wie man in hygienischer Beziehung die Fliegen u. s. w. zu fürchten hat, so auch hier. Bald sitzen sie auf dem Düngerhaufen, bald in Stallungen, und von überall tragen sie in ihrem Haarkleid die Keime herzu. Verfasser hat öfters Fliegen in sterile Würze geworfen und eine kräftige Gärung dann erhalten, in der die verschiedensten Organismen auftraten.

Über die Verbreitung der Hefe durch Insekten hat neuerdings Berlese interessante Untersuchungen angestellt. Er fand in den Ritzen der Stämme von Obst- und Waldbäumen gewöhnlich S. apiculatus und ellipsoideus-Zellen, am zahlreichsten an der Sonnenseite, wo sich Insekten mit Vorliebe aufhalten.

In lange sterile Röhren wurden Ameisen (Cremastogastes scutellaris) resp. Fliegen (Sarcophaga carnaria, Calliphora erythrocephala, Drosophila

cellaris) eingesperrt und alsdann der Nachweis erbracht, dafs mit den Tierchen auch Hefepilze eingeschleppt wurden (S. apiculatus und S. ellipsoideus, sowie eine Pastorianusart).

Im Körper von Fliegen wurden reichlicher Hefezellen gefunden, als an Beinen und Flügeln. Die Hefe passiert hier unbeschadet den Darmkanal, ja im Innern des Fliegenkörpers geht sogar eine starke Vermehrung der Hefe vor sich. Anscheinend ist der sogenannte „Kropf" der Insekten, den Berlese mit stark zuckerhaltigem Saft gefüllt fand, der Ort, wo die Vermehrung der Hefezellen vor sich geht. Berlese liefs eine Fliege einen Tropfen Weinmost mit ca. 500000 Hefezellen aufsaugen und setzte ihr dann nur sterilen Most vor. In den Exkrementen, die er auf Hefenkeime regelmäfsig untersuchte, fand er, dafs sie jedesmal viele Millionen Hefezellen enthielten.

Wenn wir fragen, was für Arten von uns speciell interessierenden Organismen hauptsächlich auf dem Getreide und auf Dungstätten vorkommen, so sind es hauptsächlich eine Anzahl von Bakterien, unter denen namentlich die Sarcina anzuführen ist, und dann eine Anzahl von Torula-Arten. Seltener findet man andere wilde Hefen, z. B. Pastorianus-Formen. Diese haben andere Standorte. Hansen hat gezeigt, dafs sie sich namentlich in Obstgärten vorfinden. Diese Organismen siedeln sich auf den süfsen Früchten an, werden zur Regenzeit zu Boden gespült und überwintern dort.

Aber nicht blofs die Luft und die Insekten sind Transportmittel für Infektionskeime, sondern auch das Wasser ist ein solches, ja wenn es reich an organischen Substanzen ist, kann es, namentlich in Berührung mit der Luft, sogar eine grofse Vermehrung von Keimen gestatten. Ein Wasser, welches aus tiefen Brunnen stammt, also eine genügende Filtration erfahren hat, wird verhältnismäfsig wenig Keime enthalten. C. Fränkel hat im Centrum Berlins auf seit Jahrhunderten bewohntem Boden das Wasser eines eisernen Röhrenbrunnens nach voraufgegangener Desinfektion des Brunnenrohres durch mechanische Reinigung und Kresolschwefelsäure mehrere Tage lang absolut keimfrei befunden. Aber selbst wenn eine Brauerei ganz gutes Wasser aus dem Brunnen oder aus einer Leitung bekommt, so ist doch nicht ausgeschlossen, dafs auf dem Wege, den das Wasser in der Brauerei zurücklegt, eine Ansteckung mit Krankheitsstoffen erfolgt. Offene Reservoire, die beispielsweise auf Malzböden stehen, sind dem Staube vom Malz sehr ausgesetzt; dasselbe gilt von Reservoiren, die sich in der Nähe von Schrotmühlen befinden. Selbst das beste Brunnenwasser kann hier allmählich so mit Mikroben angefüllt werden, dafs es zum Hefewaschen etc. so gut wie untauglich ist. —

Ganz schlimm kann es in Betrieben kommen, welche zwar gutes Brunnenwasser haben, in denen aber dasselbe schon im Brunnen durch

Abwässer aus der Brauerei verunreinigt wird. Es kann dieser Fall leicht eintreten, wenn die Brunnenwände undicht sind und in der unmittelbaren Nähe die Ableitung der Spülwässer liegt. Letztere enthalten die in den Bierresten der Fässer und Flaschen massenhaft vorhanden gewesenen schädlichen Organismen in ziemlich grofser Menge. — Brauereien, die ihr Wasser aus Flüssen entnehmen müssen, werden dazu natürlich eine oberhalb der Einmündung der Abwässer gelegene Stelle auswählen müssen. Der Gärungspraktiker hat hier nach denselben Gesichtspunkten zu verfahren, wie der Hygieniker. Ist doch das Auftreten epidemischer Krankheiten gar zu häufig mit Verunreinigungen des Wassers verknüpft gewesen. Brunnen in schmutzigen Höfen mit ungenügenden Vorkehrungen gegen den Zulauf von Schmutzwasser sind immer für gefährlich anzusehen. Die Wasser- und Filterwerke der an Flüssen gelegenen Städte werden flufsaufwärts angelegt, die Abwässer unterhalb abgeführt. —

Gärungsbetriebe, die aus kleineren Bächen Wasser entnehmen müssen, die schon ganze Ortschaften durchflossen haben, haben oft grofse Schwierigkeiten mit der Reinhaltung der Gärung, namentlich im Sommer, wo die Fäulniskeime in gröfserer Zahl auftreten. Zu warnen ist auch vor dem Genufs solchen Wassers, da pathogene Bakterien, Typhusbacillen z. B., vorhanden sein können. Im Wasser resp. im Schlamm bleiben diese Keime oft wochen- und monatelang lebensfähig.

Bei gefrorenem Wasser, dem Eis, ist ebenso Vorsicht geboten. Stammt es aus einem Teich, der viele Zuflüsse hat, die reich an organischen Substanzen sind, dann wird auch das Eis Unmengen von Keimen enthalten. Es ist bekannt, dafs die Keime durch die Kälte nicht absterben, sondern ebenfalls konserviert werden. Bischoff hat eine Anzahl Eisproben aus Berliner Eiswerken untersucht und im ccm Schmelzwasser bis 800 000 Keime, welche in Nährgelatine noch angehen, gefunden. Nur Eis aus destilliertem Wasser hergestellt erwies sich als keimfrei. Da während der Sommerszeit, namentlich in kleineren Städten, die Brauereien zugleich Eislieferanten sind, sei hier auf die Bedeutung hingewiesen, die sie durch Herstellung eines keimfreien Eises für hygienische Zwecke erhalten können, denn nur keimfreies Eis ist für den Genufs und als Zugabe zu Getränken gefahrlos. Ein Eis, welches mit aufserordentlich viel Keimen imprägniert ist, wird namentlich in solchen Brauereien verheerend wirken, wo sich oberirdische Eiskeller befinden und wo das Schmelzwasser durch die Decken hindurchsickert. Die Bakterien sind ja so winzig klein, dafs sie auch den Weg durch die porösen Mauern finden.

Ein keimreiches Wasser bringt an vielen Stellen des Betriebes Gefahren. Die langen Leitungsrohre, die ja zuletzt immer mit kaltem Wasser nachgespült werden, gestatten mit ihren wenn auch spärlichen

Schaum- oder Würzeresten eine reichliche Vermehrung der Wasserorganismen. Ähnliches gilt von den Fafs- und Bottichwandungen und dem verschiedenen Geschirr, zu dessen Reinigung solches Wasser verwendet wird. In der Hefewanne oder in den Hefewasch- und Lüftungsapparaten vermischen sich die Wasserkeime reichlich mit den Hefen und werden von denselben zum Teil festgehalten, bei längerem Stehenlassen der Hefe leiten sie dann die Fäulnis derselben ein. Da die Zellwandung der Hefe nach aufsen verschleimt ist, dringen die mit Geifseln versehenen Bakterien in diesen Schleim hinein, und kein Schlemmen und Waschen vermag sie daraus zu vertreiben. Am haltbarsten wird die Hefe bei Verwendung gekochten Wassers und bei sorgfältiger Desinfektion der Hefewannen vor dem Gebrauch. Die in der Hefe selbst während der Gärung vorhandenen Bakterien (Sarcina, Essigsäure- und Milchsäurebakterien) vermögen keine Fäulnis der Hefe einzuleiten.

Der Gebrauch sehr bakterienhaltigen Eises zum Abkühlen der Hefen in der Wanne ist ebenso gefährlich, wie der keimreichen Wassers. Selbst bei Anwendung von Schwimmern ist wegen der Möglichkeit unvorsichtiger Behandlung eine Infektion durch das Eis oder das Schmelzwasser leicht möglich. Kunsteis aus demselben Wasser, welches auch zum Hefewaschen gebraucht wird, ist natürlich unbedenklich, soforn das letztere eben gut ist.

In Brauereien mit Kühlmaschinen kann es leicht vorkommen, dafs das Kühlwasser, das ja nur selten erneuert wird, so viel Keime aufstapelt, dafs durch das geringste Versehen bei dem An- und Abschrauben der Kühltaschen eine Infektion der Gärbottiche eintreten kann.

Masseninfektionen können dann noch erfolgen durch Bezug stark verunreinigter Hefe, durch mangelhafte Reinigung der Leitungen, Bottiche und Gefäfse (der Bierstein sitzt z. B. oft voll von Hefen), durch schlecht funktionierende Luft-, Wasser- und Bierfilter, durch Trubsäcke, durch unrichtige Behandlung der Klärspäne (zu langes Stehenlassen nach dem Aufkochen im Wasser), durch schlechte Reinigung der Flaschen und Gebinde.

Die Filterfrage hat ihre zwei Seiten. Ein Bierfilter funktioniert gewöhnlich dann ausgezeichnet, wenn eine gesunde Gärung vorausgegangen und das Bier nur von den verhältnismäfsig dicken Bierhefezellen getrübt ist.

Ein von wilden Hefen bevölkertes Bier hat zu viel kleine Zellen, als dafs diese sämtlich zurückgehalten werden könnten. In dem filtrierten Bier ist das Verhältnis zwischen guten und schädlichen Keimen insofern verändert, als fast nur die letzteren noch vorhanden sind. Noch durchgängiger sind die Bakterien, und selbst bei Thonfiltern mufs man noch mifstrauisch sein.

In vielen Brauereien besteht die Gepflogenheit, die Lagerfässer vor dem Spunden noch mit einigen Litern filtrierten Bieres spundvoll zu machen. Dies kann unter Umständen sehr gefährlich werden, wenn kurz zuvor ein Faſs gefiltert worden war, das reich an Bakterien (Sarcina u. s. w.) war. Mit den wenigen Litern Bier kann nun aber die ganze Abteilung, die gespundet werden soll, infiziert werden.

Der Besitz eines gröſseren Luft- oder Wasserfilters, bei dem sich eine häufige Erneuerung der Filtermasse wegen der groſsen Unkosten verbietet, erfordert gebieterisch auch eine öftere bakteriologische Kontrolle. Bezüglich der Wasserfiltration liegen bereits zahlreiche Erfahrungen vor aus den groſsen städtischen Wasserwerken.

Man benutzt hier hauptsächlich Sandfilter. Ganz bakterienfrei erhält man das filtrierte Wasser fast nirgends, aber der Bakteriengehalt hält sich bei normalen Verhältnissen immer in beschränkten Grenzen, wobei es gleichgültig ist, ob das Rohwasser viel oder wenig Keime aufweist. Man hält ein Filter dann nicht mehr für zuverlässig, wenn die Keimzahlen im Filtrat unvermittelt hoch steigen. Wo viele Filter gleichzeitig thätig sind, sollte man sich nicht begnügen, aus dem Sammelbassin die Proben zu untersuchen, weil hierbei leicht das mangelhafte Funktionieren des einzelnen Filters übersehen werden kann, was bei Epidemien leicht verhängnisvoll werden dürfte[1]).

Bemerkenswert ist, wie selbst in den Betrieben, die mit gröſster Sorgfalt vorgehen, doch hin und wieder noch einige Schlupfwinkel aufgedeckt werden. So fand Verfasser in einer Brauerei, die das Kühlschiff durch einen eisernen Bottich ersetzt hatte, oft 2—3000 Bakterienkolonien im ccm der gekühlten Würze. Es stellte sich heraus, daſs ein am Boden des Bottichs befindlicher Ablaſsstutzen der Infektionsherd war. Die erste Würze, die aus dem Sudhaus kam, war verhältnismäſsig niedrig temperiert und auch mit dem Keimen der Leitung beladen; im Bottich floſs sie zunächst in die tiefsten Stellen, also auch in den Ablaſsstutzen. Hier blieb die Temperatur ziemlich niedrig, so daſs unendlich viel Bakterien sich die Nacht über entwickeln konnten, während die groſse Würzemenge sich nicht unter 62° C. abkühlte. In Brauerein, die im

[1]) Um für Vergleiche einigen Anhalt zu haben, seien einige Zahlen aus den Berichten über die Berliner Filterwerke hier angeführt. Das Tegeler Werk besitzt 21 überwölbte und dadurch vor Frost geschützte Filterbassins mit einer gesamten filtrierenden Sandfläche von 50 000 qm; die gröſste Leistungsfähigkeit beträgt 86 400 cbm in 24 Stunden.

Rohrwasser vom Tegeler See an der Havel enthielt durchschnittlich 636, im Maximum 4600, im Minimum 22 Keime pro 1 ccm. Rohrwasser vom Müggelsee (von der Spree durchflossen) enthielt durchschnittlich 1784, im Maximum 5280, im Minimum 180 Keime pro 1 ccm. Rohrwasser vom Stralauer Werk (an der Spree dicht oberhalb Berlins) enthielt 22800 resp. 250000 resp. 2100 Keime pro 1 ccm.

Gärbottich Lederscheiben gebrauchen, um das Glockenventil abzudichten, fand Verfasser zahlreiche, fast durchweg Pastorianus-ähnliche Zellen, die sich zwischen den Lederfasern festgesetzt hatten. Durch mechanische Reinigung waren sie nicht zu entfernen, sondern nur durch antiseptische Mittel oder durch Hitze.

Eiserne Podeste sind wegen der zahlreichen Durchbrechungen sehr günstige Ansiedelungsstellen für Hefen u. s. w., und können letztere von hier mit dem Schuhwerk leicht verschleppt und in die Bottiche übertragen werden. Wenn man von Leder- oder Holzsohlen des Kellerpersonals etwas abkratzt und unter dem Mikroskop betrachtet, wird man staunen über die Reichhaltigkeit der Mikrobenvegetation. Eine ausgezeichnete Fundstelle für eine solche sind gewöhnlich auch die Bottich- und Faſsbürsten. Man glaubt zumeist schon genug gethan zu haben, wenn man sie nach dem Gebrauch tüchtig mit Wasser spült. Wenn man aber anscheinend noch so saubere Bürsten einmal näher untersucht, indem man z. B. mit der Hand kräftig darüberfährt und dabei die verspritzten Tropfen auf einer Glasplatte oder an einer Fensterscheibe auffängt, dann zeigt sich, daſs dieselben zumeist ganz milchig aussehen infolge des Gehaltes an Bakterien, Hefen, Amöben, Infusorien und Pilzen. Bürsten sind daher vor dem Gebrauch stets erst zu desinfizieren, entweder mittelst Dampf oder antiseptischer Lösungen (Einlegen in eine 6fach verdünnte Lösung von doppeltschwefligsaurem Kalk). Ähnlich wie die Bürsten sind auch die Schwämme zu behandeln, die zum Trocknen der Bottich- und Faſswandungen häufig gebraucht werden. Niemals ist eine durch gelöschten Kalk oder durch doppeltschwefligsauren Kalk desinfizierte Bottich- oder Faſswand nachher mit einer keimbeladenen Bürste abzubürsten. Statt zu reinigen, würde man damit die sterilen Wandungen nur infizieren.

Da das Holz der Bottichwandung, namentlich Eichenholz, auſserordentlich breite Poren besitzt, die schädlichen Mikroben leicht als Schlupfwinkel, zu denen keine Bürste vordringt, dienen können, ist es auf alle Fälle anzuraten, die Bottichwandungen zu lackieren oder zu paraffinieren und so die Ausmündungen der Gefäſse zu verstopfen.

Man findet häufig die Kalktonne im Gärkeller offen dastehen. Bei der groſsen Kohlensäuremenge in demselben geht natürlich die oberflächliche Schicht in kohlensauren Kalk über, der gar keine desinfizierende Wirkung mehr ausübt.

In Brennereien und Preſshefenfabriken arbeitet man viel mit Soda und Ätzkalk, um die Bottiche zu säubern. Die dabei sich bildende Natronlauge hat stark desinfizierende und zugleich lösende Eigenschaften, die der Soda nicht zukommen.

Bei nicht lackierten Bottichen, wie sie in diesen Betrieben noch durchweg angetroffen werden, ist aber trotz dieser Maſsnahmen die

Desinfektion oft noch unvollkommen, weil in den röhrenartigen Holzfasern in den sogenannten Gefäfsen die Bakterien- und Hefemassen zu tief eingedrungen sind. Hier sucht man noch durch Ausdämpfen der Bottiche nachzuhelfen, wobei natürlich das Holz sehr angegriffen und weich wird.

In neuerer Zeit ist als Reinigungs- und Desinfektionsmittel von Törnell und Sjöö in Stockholm das sogenannte Antiformin[1]) eingeführt worden, welches die Wirkung des Alkali mit einer Chlor- und Ozonwirkung vereinigt, und welches nicht nur den Schleim lockert und weiter aufquillt, sondern ihn schliefslich auch zerstört.

Hefe mit 0,3 % Natronlauge verrührt und stehen gelassen, bleibt schleimig, während bei dem gleichen Versuch mit 20fach verdünntem Antiformin die Masse ganz dünnflüssig wird. Infolge dieser schleimzerstörenden Eigenschaft ist auch das Antiformin sehr geeignet zur Reinigung von Rohrleitungen, zumal das Dämpfen vermieden werden kann, bei welchem die Rohre sich werfen und an den Verbindungsstellen lockern.

Auch für die Bottichreinigung wird es verwendet, und hat es hier den unbestreitbaren Vorzug vor dem doppeltschwefligsaurem Kalk, dafs die Lunge des Personals bei der Arbeit nicht zu sehr belästigt wird. Das sogenannte „Schwarzfahren", das nur flüchtige Arbeiten, eine der Hauptursachen der Bottichinfektion, wird dabei seltener vorkommen. Wo noch mit doppelschwefligsaurem Kalk gearbeitet wird, empfiehlt Verfasser, für so lange Pinsel zu sorgen, dafs die innere Bottichwandung von aufsen her bearbeitet werden kann.

In vielen Brauereien arbeitet man mit viel zu grofsen Konzentrationen; eine 6fache Verdünnung des käuflichen 70—75 g schweflige Säure im Liter enthaltenden, doppeltschwefligsauren Kalkes reicht vollkommen aus.

In einigen Brauereien bedient man sich des Fluorammoniums zum Desinfizieren der Schläuche. Man verfährt dabei so, dafs man die Schläuche an ein Fafs anschraubt, das auf einem Holzbock in aufrechter Lage angebracht und mit der 0,4 %igen Lösung gefüllt worden ist. Das andere Ende der Schläuche wird, nachdem man die Luft daraus hat entweichen lassen, mit einem Spund verschlossen. Lösung alle 14 Tage erneuern!

Es möge hier noch darauf aufmerksam gemacht werden, dafs, sofern die Desinfektionsmittel eben blofs die Keime töten, nicht auch die organische Substanz, die den Keimen zur Nahrung dient (Trub, Eiweifsgerinnsel), entfernen, bei nachfolgendem Durchspülen mit Wasser die Ansiedlung von Organismen von neuem an denselben Stellen beginnen kann, da ja die schädlichen Stoffe mit dem Wasser ausgelaugt sind.

---

[1]) Vertretung in Deutschland: Berlin, Oskar Kühn, An der Stadtbahn 20.

Besonders starke Verschleimungen der Rohrleitungen kommen in Brennereien und Preſshefenfabriken, sowie in Weiſsbierbrauereien vor. Hier hat man sich bisher oft nicht anders mehr zu helfen gewuſst, als daſs man die Rohrleitungen auseinandergeschraubt und ausgeglüht hat. — Mit der Reinigung der Bottiche, Schläuche und Leitungen ist aber auch noch nicht alles gethan, um einer Infektion vorzubeugen. Da sieht man oft hölzerne Trittleitern für die Gärbottiche in einer Verfassung, daſs man sich sofort sagen muſs, daſs, wer von dieser Leiter aus in den Bottich springt, mit seinem Schuhwerk eine tüchtige Infektion einschleppt. Dann findet man häufig hölzerne Zapfen in die Löcher im Bottich von innen eingekeilt. Bei den kräftigen Schlägen ist aber der Zapfen zersplittert, so daſs er den Markstrahlen und Jahresringen entlang zum groſsen Teil auseinandergerissen ist.

Hier siedelt sich nun eine Vegetation an, die so lange die Gärung verunreinigt, als der Zapfen nicht erneuert wird — und das geschieht manchmal erst nach sehr langer Zeit. Solche Zapfen müssen also vorsichtig eingeschlagen und dann womöglich lackiert werden. Thermometer mit hölzernen Fassungen sind auch Infektionsherde, sofern das Holz nicht lackiert wurde. Man kratze nur einmal mit einem Objektträger etwas von dem Holz ab und man wird eine milchige Flüssigkeit voll der verschiedensten wilden Hefen und Bakterien darin finden.

Häufig genug kommt auch eine Schädigung des Bieres zu stande, ohne daſs eine direkte Infektion stattfindet.

Da ist in dem einen Keller das Pflaster schlecht geworden und der Erdboden darunter ist ganz durchseucht. Würde man davon etwas in Bier einimpfen, so dürften verhältnismäſsig wenige der Keime angehen. Aber der entsetzliche Gestank, der solchen Erdmassen entströmt, der kann die ganze Luft der Keller verpesten und sich in den leeren Fässern verbreiten, um bei der Füllung derselben auch vom Bier absorbiert zu werden.

Hier muſs die stinkende Erdmasse ausgegraben und für ein undurchlässiges Pflaster gesorgt werden, dessen Fugen mit Cement auszufüllen sind.

Ein anderer Fall: Neben dem Keller ist die Eisgrube, durch einen Holzverschlag von jenem getrennt. Die Holzwand ist eine einzige Schleimmasse. Man kratze nur einmal einen Span davon ab und lasse ihn im Zimmer langsam eintrocknen. Ein ganz penetranter Geruch wird sich da bald bemerkbar machen.

Ferner: man fasse einmal auf die Hinterseite der Lagerfässer, die zu dicht an die Wand gestellt sind. Ein Schimmelbelag überzieht die ganze Fläche. Man braucht nur die Finger an die Nase zu halten, um sofort einen unangenehm muffigen Geruch zu verspüren.

Nicht weniger scharfe Gerüche geben bei der Fäulnis die Schleimmassen, die vom Spundloch der Lagerfässer herabfliefsen.

Eine Brauerei mit wunderschönen hohen Kellern hatte eine Holzdecke und unter derselben in unmittelbarer Nähe eine überaus grofse Zahl Kühlrohre. Die Brauerei hatte alle Jahre über dumpfen Geschmack im Bier zu klagen.

Durch die nahen Kühlrohre hatte das Holz sich ganz mit Feuchtigkeit beschlagen und kräftigen Schleim angesetzt. Derselbe gab genau denselben Geruch beim Trocknen, den das Bier hatte. Verfasser möchte beinahe behaupten, dafs die Brauereien mehr Schaden durch derartige Gasabsorptionen erfahren, als durch wirkliche Infektionen.

Derartige Schäden wurden nämlich auch in solchen Brauereien festgestellt, die tadellos reine Gärungen hatten.

Manche ganz neue Keller sind manchmal kaum von Schimmelbildungen an den Gärbottichen oder Lagerfässern rein zu halten. Es mufs tagaus tagein geschrubbert werden, und dies, trotzdem für Ventilation reichlich gesorgt ist.

Hier komme ich auf eine der wichtigsten Fragen in der Kellerwirtschaft, auf die Ventilation kalter Räume. Nichts ist für die Verschlechterung der Luft in den Kellern so gefährlich, als zu starke Ventilation — wenn die zugeführte Luft nicht vorher getrocknet worden ist. Hier wie bei dem anderen Extrem, wo gar keine Ventilation vorgesehen ist, giebt es eben unaufhörlich Schimmelpilzbildung und schleimige Bakterienwucherungen.

Man hat ja auch hiergegen sich zu schützen gesucht durch öfteres Anstreichen der Wände mit Weifskalk oder Mischungen von Kalk mit Antinonnin oder Mikrosol, die beide desinfektionstüchtig sind und wenigstens den Ansatz von Schimmel und Schleime verzögern. Was man bisher nur mit den Wänden versucht, sollte man auch mit den Fässern versuchen, namentlich die Hinterseite der Fässer sollte mit derartigen Anstrichen bedacht werden. Die Fabrikanten der genannten erwähnten Anstriche führen zu Gunsten derselben auch immer an, dafs sie luftverbessernd wirken — dies ist allerdings nur indirekt der Fall durch Verhütung des Schimmels. Da, wo aber kalte Flächen mit feuchter Luft zusammenkommen, nutzt auch dieses Vorgehen nicht genügend; die wirksamen Bestandteile werden mit dem abtropfenden Wasser eben weggeführt.

Der springende Punkt, die Kellerluft geruchlos zu erhalten, ist eben eine zweckentsprechende Ventilation, die in dem Ersatz der abfliefsenden schweren Luft durch ein entsprechendes Quantum vorgetrockneter und vorgekühlter Luft besteht.

In manchen tief eingebauten Kellern ist ein Abflufs gar nicht vorgesehen. Die Luft bleibt stickend, die von unten wirkende Erdwärme

sorgt dafür, daſs die Feuchtigkeit hoch steigt und sich an den kalten Wänden niederschlägt.

In andern Kellern ist der Abfluſs der kalten Luft ein enormer, sei es durch Thüren oder Abfluſskanäle; durch die Luftschächte strömt feuchte warme Luft nach; alle Fässer und alle Wände beschlagen sich und schimmeln ebenfalls. Man überzeuge sich öfter einmal, wie die Luftschächte funktionieren, indem man ein brennendes Blatt Papier oder eine Cigarette vor die Öffnung hält und die Richtung des Rauches verfolgt.

Wo keine Ventilatoren getrieben werden, benutze man den jeweiligen Wind. Bei Westwind z. B. öffne man nacheinander die einzelnen Schächte auf der Westseite (am besten frühmorgens, wo die Luft am wasserärmsten und zugleich kühl) und die entsprechenden auf der Ostseite und lege vor die untere Einströmungsstelle Eisstücke, damit die Feuchtigkeit am Eise verbleibt. — Diese Andeutungen werden genügen, um dem Praktiker Anregung zur Abstellung einschlägiger Übelstände zu geben.

Daſs die pestilenzialisch riechende Luft von Senklöchern nicht in die Keller zurücksteigen darf — in manchen Brauereien wird noch in dieser Beziehung gesündigt, versteht sich von selbst. Auch das Streuen von Chlorkalk vor das Senkloch würde nur wenig nützen. Der Abfluſskanal zwischen Keller und Senkloch muſs durch einen Wasserverschluſs von der Kellerluft getrennt sein. Wo das versäumt ist, fließt auch zu viel kalte Luft weg, und feuchte warme Luft strömt von oben nach.

Zur Verbesserung muffiger Biere gab es bisher wenig gute Vorschläge. Verfasser empfiehlt den Zusatz von gepulverter, frischer Holzkohle (Lindenkohle), Filtrieren des Bieres durch Cellulosemasse (Asbest nimmt von dem Geruch wenig an), oder durch Bottichhefe, die vor dem Bierlaufen durch das Filter gezogen worden ist, endlich auch das Spunden mit Hefe. Hefe und Kohle können zweckmäſsig auch zusammen in das Faſs gegeben werden.

Hefe, Kohle und Cellulose absorbieren alle drei Geruchsstoffe und wirken daher auf muffiges Bier bessernd ein.

In manchen Brauereien pflegt man kleinere Gefäſse öfter mit Strohfeuer auszubrennen, statt sie zu lackieren. Hier kommt also auch Kohle mit Bier in Berührung, ohne nachteilig zu wirken.

Durch die vorigen Auseinandersetzungen dürfte unser Blick zur Genüge geschärft sein, um grobe Verstöſse gegen die Prinzipien der Reinlichkeit zu vermeiden. Gleichwohl muſs man mitunter die Probe auf das Exempel machen und die Wirkung der gegebenen Anordnungen mit Hilfe der biologischen Untersuchungsmethoden kontrollieren lassen. Zum Schluſs noch die Mahnung an die Praktiker, auch von der Zunge und Nase im Betriebe möglichst ausgiebigen Gebrauch zu machen.

Schimmelpilzkunde.

Die Schimmelpilze spielen bei der Gärung der Würzen und Maischen kaum eine nennenswerte Rolle, es sei denn in solchen Betrieben, wo noch die Selbstgärung zu Hause ist. So ist z. B. bei der Herstellung des Danziger Jopenbieres, das den ganzen Winter über im Bottich verbleibt, nicht zu umgehen, dafs eine dicke Pilzdecke die hochkonzentrierte Würze allmählich überzieht. Offenbar ist hier gar die Vegetation des Schimmels notwendig, um dem Bier zu dem eigenartig pikanten Geschmack zu verhelfen — ähnlich wie bei der Bereitung einiger Käsesorten die Gegenwart gewisser Schimmelpilzarten durchaus erwünscht ist.

Im allgemeinen hält man jedoch in den Gärungsbetrieben darauf, dafs der Schimmel da, wo er sich ansiedelt, von Zeit zu Zeit immer wieder entfernt wird. Wo dies nicht geschieht, bekommt die Luft in den Gärungsräumen oder Kellern einen muffigen Geruch, der sich in gewissem Grade auch auf die Würze resp. das Bier übertragen kann. Ein unangenehmer Gast ist der Schimmel in den Gebinden und Flaschen; in letzteren findet man oft die ganze Bierneige in eine schleimige Pilzmasse umgewandelt, und es bedarf blofs eines Versehens bei der Flaschenreinigung, und man bekommt dann beim Einschenken eine solche schlüpfrige Masse ins Trinkglas. Das sind aber vereinzelte Vorkommnisse, die keine allgemeine Bedeutung haben.

Die vom Schimmel besonders gefährdeten Punkte liegen in der Mälzerei.

Obwohl eine Unmenge Schimmelpilzsporen schon mit dem Getreide eingeschleppt werden, so liefern doch oft die in den Malztennen einheimischen Pilzvegetationen die Hauptmasse des Infektionsstoffes, namentlich dort, wo die Wände beständig feucht und die Schimmelrasen darauf nie oder höchst selten entfernt werden. Besonders üppig wird die Schimmelvegetation dort auftreten, wo viel schadhafte Körner vorhanden sind. An den Bruchstellen der Körner wurzelt sich der Pilz leicht fest, und hier wird ihm auch die Ernährung sehr leicht gemacht. Stark angeschimmeltes Malz hat einen schlechten dumpfen Geruch, der auch auf der Darre und im Sudhause nicht ganz wegzubekommen ist.

Inwieweit die Gegenwart der verschiedenen Enzyme, die der Pilz während seiner Vegetation erzeugt hat, von Einfluſs bei der Maischebereitung ist, darüber liegen bestimmte Erfahrungen nicht vor. Jedenfalls dürfte es nicht gleichgültig sein, ob ein Malz vorwiegend durch diesen oder jenen Schimmelpilz angegriffen worden ist.

Dafs der Vegetationscharakter auf dem Malz öfter wechselt, ist eine bekannte Thatsache. Bald ist es ein grüner Schimmel, bald ein

schwarzer oder roter Pilz, welcher die vorherrschende Vegetation auf dem Malz bildet.

Solche unterschiedlichen Bilder kann man auch im Laboratorium sehr leicht zu stande bringen, man braucht nur der eingeweichten, auf verschiedene Gefäfse verteilten Gerste Sporen der verschiedenen Schimmelpilzsorten beizumischen.

Besonders überraschend wirkt z. B. der Anblick eines von dem Oidium lactis durchwucherten Malzes. Schon wenige Tage nach der Aussaat sind sämtliche Körner in ein weifses Gespinst eingehüllt. Auch Impfungen mit dem Mucor stolonifer geben eine erstaunliche Pilzwucherung.

Im Orient werden seit alters her für die Zwecke der alkoholischen Gärung verschiedene Schimmelpilze dienstbar gemacht, welche diastatische Enzyme erzeugen, und so bei der Verarbeitung der stärkehaltigen Materialien (insbesondere des Reis) die Stelle des Malzes vertreten. So ist der Aspergillus Oryzae der Zuckerbildner im Koji, aus welchem der Japaner das Reisbier Saké herstellt. Zur Arrakgewinnung benutzt man auf Java neben der Melasse der Rohrzuckerfabriken den sogenannten Klebreis (Kētan) von Oryza glutinosa; für feinere Arraksorten den letzteren ausschliefslich. Als Ferment ist der sogenannte Ragi, malayische Bezeichnung für die „chinesiche Hefe", die in China „Chew" oder Pia heifst, in Gebrauch, kleine Kügelchen aus gedämpftem Reis, welche mit den verschiedenen, bei der Arrakgärung wirksamen Organismen behaftet sind, darunter Monilia javonica, Mucor (Amylomyces) Rouxii und verwandten Arten, die unter dem Namen der Amylomyces-Arten zusammengefafst werden, weil sie im stande sind, Stärke zu verzuckern. Auch vergären sie den gebildeten Zucker, wenngleich nicht so energisch wie die Hefe.

Da, wo schimmelreiches Malz verarbeitet wird, werden sich die Sporen oder auch sonstige Bestandteile des Pilzes später in den Würzen oder auch im Bier oder in der Hefe mikroskopisch nachweisen lassen; ja man findet sogar oft genug die Sporen jener Pilze, welche auf dem Felde schon das Getreide befallen haben, so die zumeist gelb bis braun gefärbten Sporen der verschiedenen Sorten von Rost- und Brandpilzen, ferner die Sporen von Cladosporium herbarum, das sich auf den Körnern bei anhaltend feuchter Witterung vermehrt und hier die sogenannte Braunspitzigkeit derselben verursacht, welche nach Zoebl die Keimfähigkeit gefährdet. Derselbe Schimmelpilz sucht auch den Hopfen stark heim und überzieht namentlich die Unterseite der Blätter mit einem olivengrünen Rasen. Weiterhin werden wir auch Spuren von Mehltau- und Rufstauvegetationen, die das Getreide oder den Hopfen draufsen auf dem Felde befallen hatten, in der Würze oder Hefe noch mikroskopisch nachweisen können.

Von den Pilzen, die in Würze sich sehr schnell und massenhaft vermehren, sind besonders das Dematium pullulans und der Mucor racemosus einer besonderen Erwähnung wert. Ersterer vermehrt sich in Zellen, die mit sprossenden Hefezellen leicht verwechselt werden können, und bewirkt eine Verschleimung, ein Langwerden der Würze; letzterer bewirkt eine alkoholische Gärung und erzeugt in den untergetaucht wachsenden Teilen Fäden, die in hefeähnliche, runde Zellen zerfallen und auch hefeähnlich aussprossen.

Oidium lactis (eiförmiger Milchschimmel).

Dieser Pilz hat seinen Namen einmal von seinem häufigen Vorkommen auf Milch — er bildet beim Stehenlassen derselben eine dicke

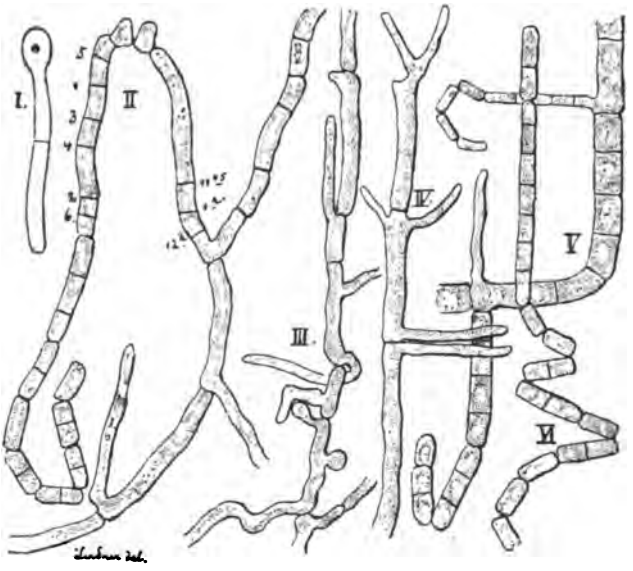


Abb. 114. Oidium lactis. Vergrößerung 600fach.
Bilder aus einer Einzelkultur im Würzetröpfchen. I Spore 24 Stunden nach der Aussaat; der junge Keimschlauch hat bereits eine Querwand angelegt. II—V sind Mycelstücke aus der 48stündigen Kultur. In II hat reichliche Querwandbildung und auch schon das Zerbrechen des Fadens begonnen. Die Zahlen 1—6 auf dem linken Schenkel des geknickten Fadens bezeichnen die Reihenfolge der Entstehung der Querwände. Auf dem rechten Schenkel sind auch Zeitangaben gemacht. Die obere Querwand wurde um 11 Uhr 45 Min. angelegt, die untere um 12 Uhr, die mittlere um 1 Uhr. In III und IV ist eine reichliche Bildung von Seitenästen im Gange. In V ist der Zerfall zweier ungleich dicker Seitenäste in Sporen dargestellt. VI ein langes Fadenstück von gleichmäßiger Dicke in lauter Sporen sich aufteilend. Der zickzackförmige Verlauf des unteren Endes ist bei einer der unten erwähnten Zuckungen plötzlich zu stande gekommen.

weiße Decke — und dann von dem Aussehen seiner Zellen. Der Ausdruck eiförmig trifft allerdings nicht ganz das Richtige.

In den Gärungsbetrieben kommt er außer auf Malz noch vor an den Wandungen der Gefäße und Leitungen, an undichten Stellen der Bottiche und Lagerfässer (an den Pforten und da, wo der Bierschaum

an den Fässern heruntergeflossen ist). Die Pilzmasse zeigt hier eine gelbliche Farbe und eine schleimige Beschaffenheit. Auch auf gepreſster Hefe findet man ihn oft in Form eines weiſsen, etwas trockenen Anfluges.

Die Sporen entstehen nämlich durch Zerfall der Mycelfäden in die einzelnen Teilstücke und sind infolgedessen mehr cylindrisch als eiförmig. Bei dem Anschwellen der Sporen tritt allerdings auch die Eiform in Erscheinung.

Auf Würze ausgesäet, wächst er zu groſsen Inseln heran und bildet auf deren Oberfläche eine zarte Wolle von reinweiſser Farbe. Unterhalb sammeln sich reichlich Gasblasen an, die jedenfalls zum gröſsten Teil aus Kohlensäure bestehen.

Hansen hat nachgewiesen, daſs das Oidium eine Spur Alkohol in Würze bildet. Eine Milchsäuerung erzeugt er nicht, wie früher vielfach angenommen worden ist.

In Luftcylindern, mit Würzegelatine ausgesäet, wächst er zu einem prächtigen, strahlenförmig sich ausbreitenden Mycel von seidenartigem Glanz heran. Die Riesenkolonien sind von strahligem Bau mit einer mehligen, trockenen Oberfläche. Später erhebt sich eine kräftige Beule in der Mitte infolge einer starken Gasbildung. Die Beule wird immer gröſser, walnuſsgroſs, und dabei spannt sich die Haut derart, daſs sie glänzend und fast durchscheinend wird; ein Platzen wurde aber nie beobachtet.

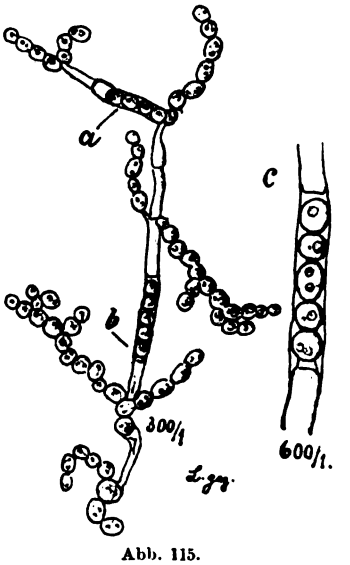


Abb. 115.
Oidium-Art in einer Adhäsionskultur gewachsen mit Durchwachsungen bei a und b. c zeigt das Zustandekommen der scheinbar endogenen Sporen.

Erst wenn die Verflüssigung der Gelatine beginnt, wird ein Entweichen des Gases ermöglicht. Bemerkenswert ist der Umstand, daſs um die Beule das Mycel sich so festgewurzelt hat, daſs es nicht dem Druck nachgiebt.

Die Beobachtung der Keimung einer Oidiumspore in einer Tröpfchenkultur ist höchst interessant. Der junge Keimschlauch wächst auſserordentlich schnell und verzweigt sich reichlich. Dann kommt eine Periode reichlicher Querwandbildung, noch später eine solche des allgemeinen Zerfalls der Fäden (Abb. 114, VI).

Beobachtet man zu dieser Zeit die Kultur, dann bemerkt man häufig starke Zuckungen der Fäden, die jedesmal mit einem Auseinanderbrechen ganzer Zellreihen verknüpft sind. Durch Klopfen auf den Mikroskopier-

tisch oder an das Mikroskop kann man diese Erscheinung wiederholt hervorrufen.

In einem Würzetröpfchen von ca. 1 mm Durchmesser waren nach 5 Tagen gegen 900 Sporen entstanden. Von einem Mycel war fast gar nichts mehr zu sehen.

Bei dem Oidium treten manchmal auch sogenannte Durchwachsungserscheinungen auf, und bilden sich innerhalb der durchwachsenen Mycelfäden Sporen, die auf den ersten den Eindruck machen, als ob sie endogenen Ursprungs wären. (Abb. 115.)

Oidium lupuli

nennen Matthews und Lott einen in der Sporenbildung dem Oidium lactis nahestehenden Schimmelpilz, der mitunter auf feucht gelagertem Hopfen erscheint und hier einen rötlich gefärbten Staub erzeugt. Er bildet ein sehr üppiges Luftmycel (im Gegensatz zu der vorigen Art) das aufserordentlich schnell heranwächst und dann fast den ganzen Raum des Kulturgefäfses anfüllt. Die Lufthyphen bilden an der Spitze ein zierliches Geäst, das durch Querwände in lauter oidiumartige Zellen zerfällt. Manchmal gleicht das Geäst auch einem Sprofsbäumchen, wenn die Zellen eiförmig angeschwollen sind und sich häufig gabeln.

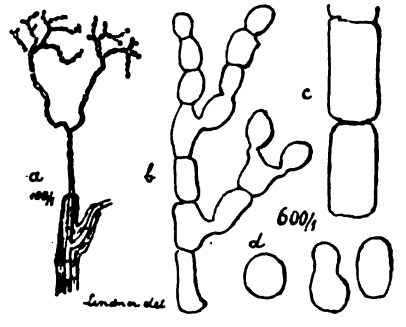


Abb. 116. Oidium lupuli.
a verzweigter Faden, der über den Rand des Würzetröpfchens herausgewachsen ist und mit der Gliederung begonnen hat. Wir sehen, wie der Faden die Würze eine Strecke lang mit sich fortgezogen hat. 100fach. b stellt das Ende eines solchen Fadens in stärkerer Vergröfserung dar. Die Entstehung der Seitenäste ist hier deutlich zu ersehen. c breiter Faden mit grofsen cylindrischen Zellen, die bereits anfangen sich loszulösen. d isolierte Sporen. b—d 600fach.

Die Sporen zeigen sich anfangs rötlich, später gelblich; in gröfserer Menge stellen sie ein herrliches orangegelbes Pulver dar. Die Zellengröfse wechselt sehr; man findet cylindrische Zellen, die bis 31 μ lang und 14 μ breit sind. Die Spore ist glatt, nimmt sehr leicht Wasser auf und rundet sich unter starker Quellung fast zu einer Kugel ab.

Oidium pullulans n. sp. ad interim.

In Luftproben von den Versuchsfeldern, sowie in Zwickelproben aus den Lagerfässern der Versuchsbrauerei fand sich wiederholt ein Schimmelpilz, der morphologisch eine Mittelstellung zwischen dem Oidium lactis und den Hefeformen einnimmt; es kommt sowohl ein oidiumartiges

Aufteilen der Fäden, als auch ein Aussprossen derselben zu hefeähnlichen Zellen vor. Die Sprofsgeneration kann bei der Kultur in Würzetröpfchen sich mitunter ausschliefslich entwickeln; es können sich bis 1000 Zellen bilden, die ganz das Aussehen gewöhnlicher Hefe haben, ohne dafs auch nur eine Andeutung von einem Mycel sich vorfindet. In anderen Tröpfchen macht sich dagegen ein solches bemerkbar; es wächst leicht über den Tropfen hinaus und zieht Würze nach sich, in der es an vereinzelten Stellen plötzlich wieder zahlreiche Gemmen bildet, die wieder Sprofszellen abgliedern. Der Mycelfaden, welcher solche

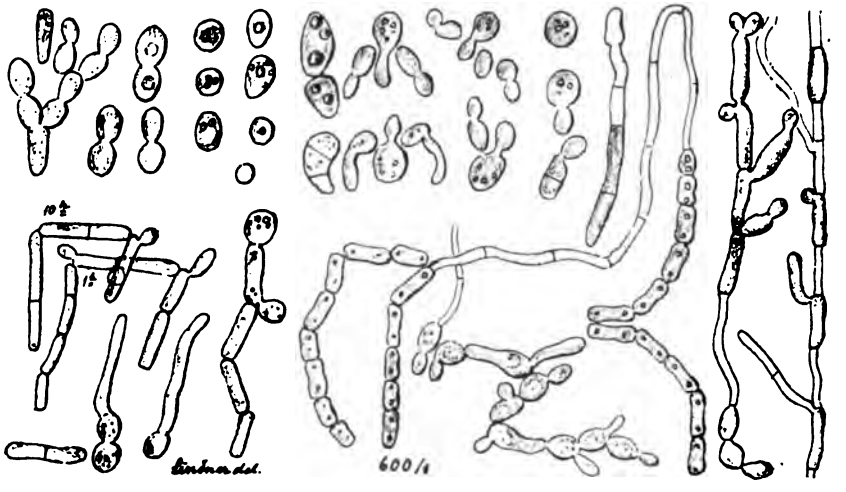


Abb. 117. Oidium pullulans. Vergrößerung 600fach.

Links oben: frisch ausgesprofste Zellen mit fast homogenem Plasma. Das grofse Zellenpaar rechts von dem Sprofsverband zeigt inmitten zwei deutlich begrenzte Plasmaklümpchen (24 Stunden nach der Aussaat). In den weiter nach rechts befindlichen Zellen sind kleinere und gröfsere Fetttröpfchen vorhanden (8 Tage nach der Aussaat). Links unten: die beiden doppelt rechtwinklig gebogenen Fadenstücke, welche mit 10 h und 1 h bezeichnet sind, lassen die innerhalb 3 Stunden eingetretene Veränderung erkennen. Die verlängerten Gliederzellen teilen sich oidiumartig auf; zwei Zellen haben einen seitlichen Sprofs getrieben (24 Stunden nach der Aussaat). Die nach der rechten Seite folgenden Gruppen zeigen zum Teil lange, inhaltsleere Fadenstücke, zum Teil Gemmenbildungen, die bald das Aussehen von Zellen des Oidium lactis, bald von Hefezellen haben. (Ältere Kultur.) Sämtliche Bilder stammen aus einer Einzellkultur im Würzetröpfchen.

Nester mit dem Würzetröpfchen verbindet, ist so aufserordentlich dünn, dafs man ihn nur bei aufmerksamer Beobachtung erkennt; ebenso sind die Querwände nur schwer zu finden. In Würzekölbchen ausgesäet, bedeckte sich die Oberfläche bereits nach 2 Tagen mit einer matten Haut, die an der Wandung einen rahmartig aussehenden Hefenring bildete. Der Bodensatz ist nur schwach und locker aufliegend. Bewegt man das Kölbchen nur wenig, dann entstehen in der Haut weifse Falten, die sich nicht wieder glätten. Auf Würzegelatine ausgesäet, bildet sich ein gelblichbrauner, mattglänzender, stellenweis auch stark glänzender Belag. In älteren Kulturen entstehen scharfe Grate oder spitze Kegel, späterhin stellt das Ganze eine formlose Masse dar. Eine Gärung ist in Würze

nicht bemerkbar. Das Verhalten der Zellen im Lagerfafs ist noch näher zu studieren.

Die Bezeichnung Oidium pullulans mag als eine provisorische gelten, solange nicht der Zusammenhang dieses Pilzes mit einer höheren Form erwiesen ist[1]).

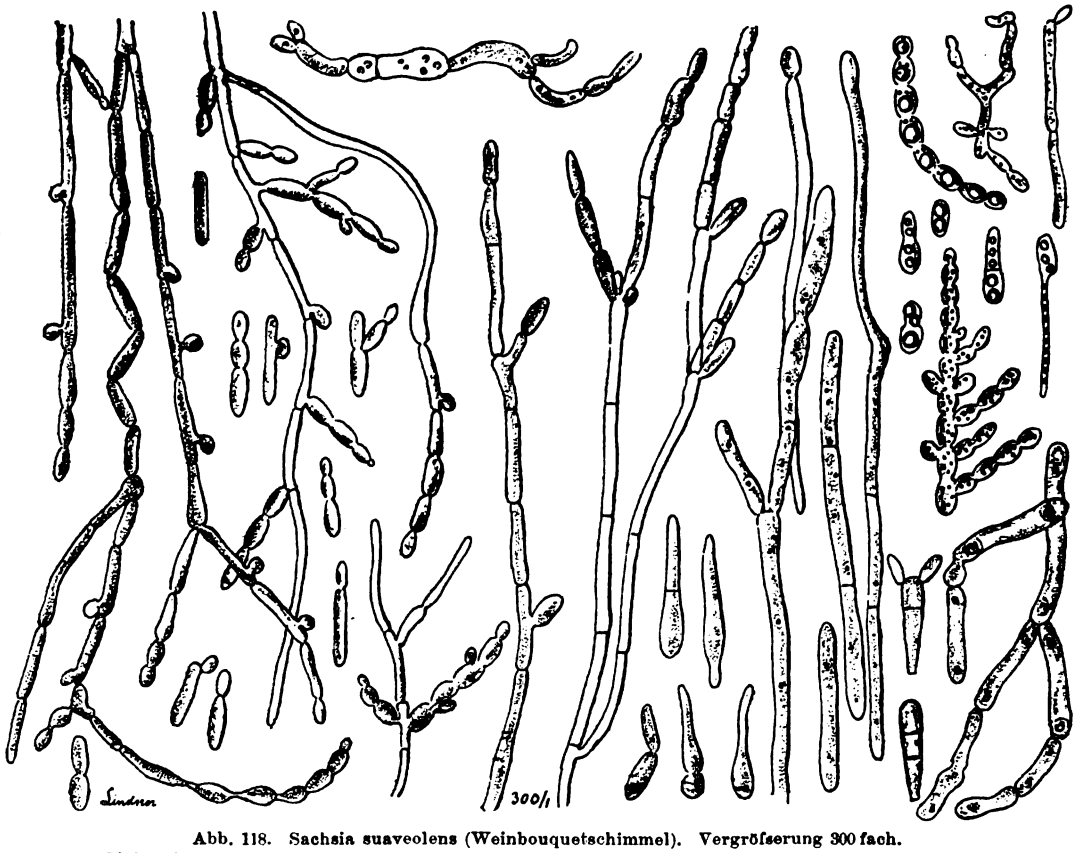


Abb. 118. Sachsia suaveolens (Weinbouquetschimmel). Vergröfserung 300fach. Links sind mehrere reichlich gegliederte Mycelfäden, die kurz vor dem Zerfall stehen, zu sehen, auch einzelne sprossende Zellen. Ganz rechts finden wir Zellgruppen aus älteren Kulturen. Die keilförmigen, durch 1 oder 2 Querwände geteilten Zellen hatten ganz das Aussehen von Sporen; sie hatten verdickte und grünlich gefärbte Wandungen. In der Mitte oben sehen wir das Auskeimen einer ebenfalls wie eine Spore sich darstellenden Zelle.

Sachsia suaveolens n. sp. ad. interim.

Unter dieser ebenfalls provisorischen Bezeichnung möge der nunmehr zu besprechende, bisher als „Weinbouquetschimmel" in der Samm-

[1]) Nach Brefelds Untersuchungen bilden eine grofse Anzahl höherer Schimmelpilze oidiumartige Vegetationen.

Verfasser hat in den letzten Jahren aus dem Bier einer thüringischen Brauerei gleichzeitig drei verschiedene Arten von sprossenden Oidiumarten isolieren können. Um das Spundloch der Lagerfässer herum siedeln sich gern diese Arten an.

lung des Verfassers geführte Schimmelpilz gehen. Er fand sich in einer Brennerei massenhaft an den Bottichen und an den mit Teeranstrich versehenen Wandungen, später jedoch auch auf den der Versuchsbrauerei angrenzenden Versuchsfeldern. Er dürfte zu dem kürzlich von Christian Bay beschriebenen Schimmelpilz „Sachsia albicans" in sehr naher Beziehung stehen. Besonders charakterisiert ist der Pilz durch das herrliche Bouquet, welches er in Würze oder Würzegelatinekulturen entwickelt. Auf letzterer bildet er ein blendend weifses Luftmycel, das erst nach Wochen zusammensinkt und dann einen feuchtglänzenden Filz bildet. In der Würzetröpfchenkultur verhält er sich ähnlich wie das Oidium lactis. Bei der geringsten Berührung fallen die einzelnen Gliederzellen der Fäden auseinander, und man hat dann lauter mehr oder weniger langgestreckte, zumeist sprossende Zellen vor sich.

In älteren Kulturen treten auch vereinzelt grünlich gefärbte Mycelfäden auf, die an Dematium oder Fumago-Arten erinnern. Es fällt uns hier auch die massenhafte Bildung von Fetttröpfchen auf. Wie bei den vorigen Schimmelpilzen sind auch hier weite Fadenstrecken völlig inhaltsleer. In Würze eingesäet, bilden sich nach einigen Tagen grofse Flocken; eine sichtbare Gärung tritt nicht ein. Die untergetauchten Fäden sprossen reichlich. Nach sehr langer Zeit verwandelt sich der gröfste Teil der Würze in Pilzmasse. Stellt man Würze bei etwas höherer Temperatur hin, dann bemerkt man auch eine Gärung, die nach Wochen sogar eine höhere Endvergärung giebt, als wie sie bei den Hefen Pombe oder Logos erhalten werden kann. Der Geschmack der vergorenen Flüssigkeit ist stark aromatisch, aber nicht besonders angenehm. Der Pilz bildet während der Gärung ziemlich viel Säure; auch kann er eine Verschleimung in verschiedenen Zuckerlösungen hervorrufen.

Interessant ist, dafs er auch Milchzucker und β-Methylklukosid vergärt. Vgl. S. 196.

Dematium pullulans.

Gelegentlich zahlreicher Luftuntersuchungen in Brauereilokalitäten traf Verfasser wiederholt, namentlich in der Luft auf Kühlschiffen, eine Schimmelform an, die unter dem Namen Dematium pullulans bekannt ist. Sie war in den Gelatinecylindern, die zur Luftuntersuchung benutzt wurden, leicht unter den anderen Schimmelpilzen herauszufinden, indem sie frühzeitig eine Verflüssigung der Gelatine herbeiführte. Beim Übertragen einer solchen Kolonie in sterilisierte gehopfte Würze fand eine ziemlich schnelle und kräftige Entwicklung des Organismus statt, und zwar waren es besonders die schon von früheren Forschern beobachteten hefeähnlichen Zellengebilde, welche sich in der Flüssigkeit breit machten. Nach einigen Tagen zeigte sich die Kultur in der Weise verändert, dafs an den Wandungen des Gefäfses unterhalb der Flüssigkeit zahlreiche, dicht

nebeneinander gelegene, schleimig-flockige Beläge auftraten, die ziemlich fest am Glase hafteten. Die Würze selbst, in dem Aussehen übrigens nur wenig verändert, zeigte eine intensiv fadenziehende Beschaffenheit. Dieselbe gab sich schon zu erkennen, wenn mit dem Platindraht kleine Proben zur mikroskopischen Untersuchung entnommen wurden: Der Öse des Drahtes folgte die zähe Würze in Gestalt eines langen, dünnen Fadens, der erst bei einer Länge von ungefähr 15—20 cm in der Mitte zerriſs. Noch deutlicher zeigte sich diese eigentümliche Beschaffenheit der Würze beim Ausgieſsen aus dem Gefäſs. Hier gelang es, Fäden von über 1 m Länge und von der Dicke eines Zwirnfadens zu erhalten.

Die mikroskopische Untersuchung eines Tropfens Würze in diesem Stadium lieſs weiter nichts erkennen als vereinzelte Zellen von dem

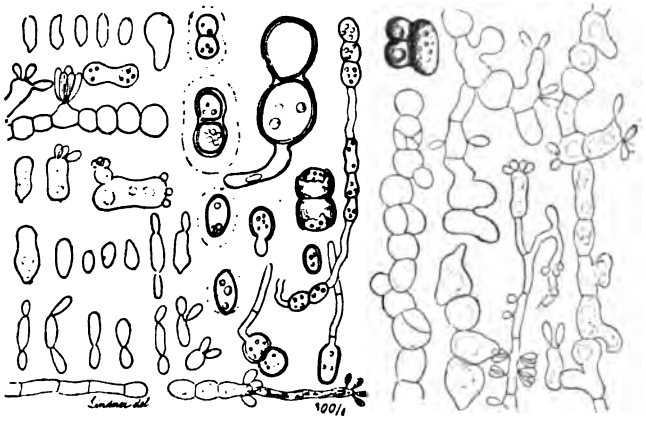


Abb. 119. Dematium pullulans. Vergröſserung 300 fach.
Die linke Hälfte der Zeichnung stellt eine Dematiumvegetation aus einer 5tägigen Kultur in Würze dar, die fadenziehend geworden war. Die sprossenden, hefenähnlichen Zellen bildeten die Hauptmasse. In der Mitte sehen wir Dauerzellen, zum Teil mit verschleimter äuſserer Zellhautschicht und Fäden, in denen die Bildung von Gemmen erfolgt ist. Die rechte Seite zeigt zunächst ein Fadenstück, dessen Glieder kugelig angeschwollen und durch Querwände mehrzellig geworden sind. Am Rande rechts Fadensstücke mit kleinen Höckern, die nacheinander eine Anzahl hefeähnlicher Zellen hervorgehen lassen.

Aussehen einer länglichen Sproſshefeform. Hin und wieder kamen jedoch auch einige Zellen von etwas abweichenden Formverhältnissen vor.

Nach 6tägiger Kultur begann an der Oberfläche der Würze, besonders an der Glaswandung, das Auftreten von langgestreckten Fäden, in denen die Bildung der eigentümlich gefärbten Dauerzellen des Dematium erfolgte. Die anfänglich grünliche Farbe der Dauerzellen geht allmählich in Schmutziggrün und in Schwarz über.

Ähnlich wie in gehopfter Bierwürze verhält sich das Dematium auch in Weiſsbierwürze und in Rohrzuckerlösung; in letzterer tritt die Zähflüssigkeit jedoch weniger intensiv auf.

Die Zähflüssigkeit der zuckerhaltigen Flüssigkeiten ist bedingt durch eine kräftige Verschleimung der Zellmembranen; der Schleim selbst ist

aufserordentlich durchsichtig und selbst unter dem Mikroskop nur schwierig zu erkennen; gleichwohl wird seine Gegenwart angedeutet durch die gegenseitige Lagerung der Zellen und die zwischen ihnen befindlichen Abstände. Selbst bei Bewegungen der Flüssigkeit unter dem Deckgläschen bleiben diese unverändert; eine unmittelbare Berührung zweier Zellen findet nicht statt. Besonders deutlich kann man die Verschleimung beobachten bei Kulturen des Dematium auf Würzegelatine. Hier treten nach einigen Tagen schon an verschiedenen Stellen des Impfstriches aus den anfänglich gebildeten Mycelien feuchtglänzende, schmutzigweifse bis graue Schleimkuchen hervor, die sich immer mehr ausbreiten, schliefslich einander berühren und zusammen verschmelzen. Ist die Schleimmasse weiterhin angewachsen, so fliefst dieselbe nach unten ab und sammelt sich auf dem Grund der Gelatinefläche. Dieser aufserordentlich fadenziehende Schleim besteht lediglich aus mehr oder weniger hefeähnlichen Dematiumzellen und den diese umgebenden Schleimhüllen.

Durch die Verschleimung der Dematiumzellen erhält die Würze einen weichen, pappigen Geschmack, der auch dann noch nicht verschwindet, wenn eine solche Würze mit einer rein kultivierten Unterhefe vergoren wird. Während der Gärung verschwindet jedoch die Zähflüssigkeit fast ganz, offenbar infolge der beständigen Zerteilung und Bewegung der Flüssigkeit durch die aufsteigenden Kohlensäurebläschen. Gleichzeitig geht auch das allmähliche Absterben der Dematiumzellen vor sich.

Um eine etwaige Säurebildung nachzuweisen, wurde das Dematium in neutraler Malzextraktlösung kultiviert. Es traten hier die nämlichen Erscheinungen zu Tage wie bei der gehopften Würze.

Nach 18tägiger Kultur war nur eine ganz minimale Säuerung entstanden. Zur Neutralisation von 20 ccm bedurfte es 2 ccm $^1/_{10}$ Normalnatronlauge.

Interessant ist die Erscheinung, dafs Würze, die mit Dematiumhefe geimpft ist, in flacher Schicht auf einem Objektträger ausgegossen nach einem Tage zu einem Gelatinekuchen erstarrt ist, in welchem nun zahlreiche Kolonien sich bilden, als wäre eine Gelatineplattenkultur angesetzt worden.

Es giebt auch Dematiumarten, welche zwar in Würze wachsen und schleimige Decken bilden, aber die Würze nicht schleimig machen. In dem mikroskopischen Aussehen bestehen mancherlei Übereinstimmungen. Wir erhalten das Dematium pull. ziemlich sicher, wenn wir Blätter, die vom Rufstau befallen sind, in sterile Würze werfen. Die Würze wird mitunter schon nach 10 Stunden fadenziehend.

Die Zellen des Dematium unterscheiden sich von der gewöhnlichen Bierhefe zumeist durch die zugespitzten Enden; es kommen allerdings

auch völlig runde Zellen vor. Die Mycelbildung tritt gewöhnlich erst nach mehrtägiger Kultur ein: einzelne Fäden zerfallen in tonnenförmige

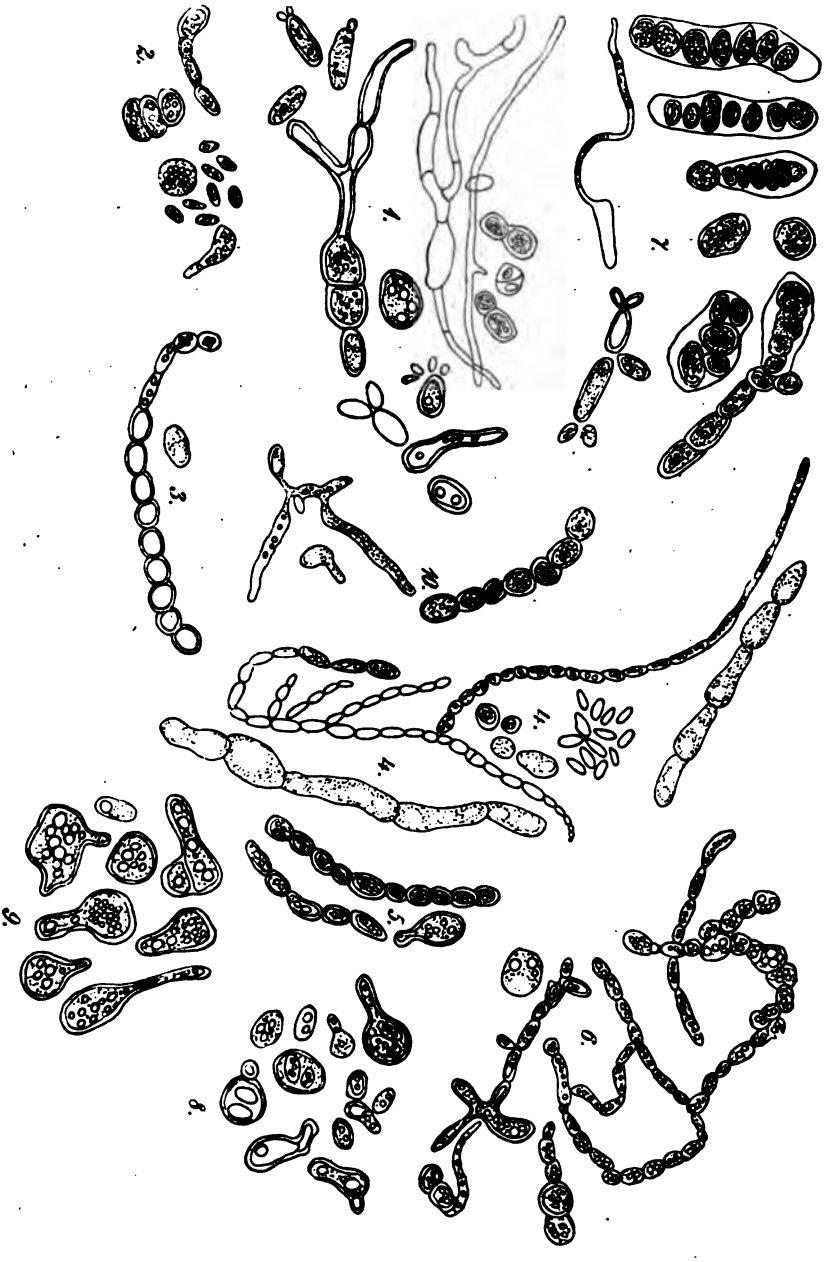


Abb. 120. Fünf mikroskopische Bilder aus Kulturversuchen mit Dematium pullulans (nach von Skerst).
Zellformen von Dematium pullulans in Nährlösungen von verschiedenen Zuckerarten. Vergrößerung: 450fach.
Fig. 1 0,5% Glukose + 0,5% Fruktose + 1% Nährsalzlösung. Fig. 2 1,5% Glukose + 1,5% Fruktose + 1% Nährsalzlösung. Fig. 3 5% Glukose + 5% Fruktose. Fig. 4 10% Fruktose. Fig. 5 10% Milchzucker + 1% Nährsalzlösung. Fig. 6 10% Milchzucker. Fig. 7 10% Rohrzucker + 1% Nährsalzlösung. Fig. 8 10% Rohrzucker. Fig. 9 10% Glukose + 1% Nährsalzlösung. Fig. 10 10% Glukose.

oder kugelige Zellen, wie die untergetaucht wachsenden Mycelfäden des Mucor racemosus. An mehreren Stellen eines solchen Fadens erheben

sich aus der Zellenwandung kleine Höcker, die nacheinander eine gröfsere Anzahl hefeähnlicher Zellen abgliedern. Die sich dunkelgrün färbenden Faden zeigen oft einen dicken Schleimhof, ebenso die einzelnen aus dem Fadenverband getretenen Zellen, die wegen ihrer dicken Wandung und ihres reichlichen Inhalts als Dauerzellen angesprochen werden können.

O. von Skerst hat ein vom Verfasser auf den zuckerhaltigen Sekreten der Myrten- und Oleanderschildlaus (Aspidiotus Nerii) gefundenes und reingezüchtetes Dematium in verschiedenen Nährlösungen geprüft und gefunden, dafs unter Umständen, namentlich in Fruktose- und Glukoselösungen, eine fast 1 cm dicke, schwarze Decke von festgallertiger Konsistenz sich bildet, die allen Reagentien gegenüber unverwüstlich ist. Sie ist hygroskopisch, und ein derartiges Präparat braucht keinen abschliefsenden Lack oder dergl. am Rande des Deckgläschens.

Jörgensen glaubte in Dematium-Arten die Stammform der Weinhefe nachgewiesen zu haben, aber die Nachprüfungen haben bisher immer negative Resultate ergeben. Weleminsky und Klöcker haben Sporen in Dematiumfäden gefunden; Klöcker hat jedoch gezeigt, dafs dieselben weiter nichts sind als Gemmen von Durchwachsungsfäden, die aus benachbarten Zellen stammen. Verf. hatte derartige Durchwachsungserscheinungen früher schon bei Botrytis cinerea beobachtet. Noch auf andere Weise können anscheinend endogene Sporen zu stande kommen, durch Auflösung der Querwände in einen Gemmenverband. Vgl. die Fig. 7 in der Abb. 120.

In zwei Fällen wurden vom Verf. in den ungefärbten Endstücken der Fäden Endosporen beobachtet, deren Keimung in Bierwürze jedoch ausblieb.

Das Dematium pullulans wird häufig bei den biologischen Analysen der Getreidearten gefunden. Seine Beziehungen zu den Blatt- und Schildlaussekreten wurden bereits früher erwähnt.

Schostakowitsch hat gezeigt, dafs Dematium pullulans in konzentrierten Lösungen von Rohr- und Traubenzucker nur als steriles Mycel wächst, und dafs man durch langsame Gewöhnung die Hefegeneration auch bei der Temperatur von 30° C. ziehen kann, bei der sonst nur paketartige Zellkörper sich ausbilden. Mit Cladosporium und Hormodendron besteht kein genetischer Zusammenhang.

Monilia candida (siehe Abb. 121)

ist ein weiterer Schimmelpilz, der in Würze hefeartig sprofst, dabei aber eine Gärung hervorruft; wurde von Hansen auf frischem Kuhmist und auf süfsen, saftigen Früchten in Form eines weifsen Belags vorgefunden.

In Würze bildet der Pilz oberflächlich eine weifse Haut, und in dieser stellen sich mycelartige Bildungen ein, während am Boden mehr gleichmäfsig ausgebildete, hefeähnliche Zellen entstehen. Nach Hansen scheidet er kein Invertin aus, trotzdem vergärt er Rohrzucker; das Rohrzucker spaltende Enzym ist nach Emil Fischer nicht löslich. (Vergl. S. 196 und 199.) Die Gärung verläuft zwar langsam im Vergleich zur

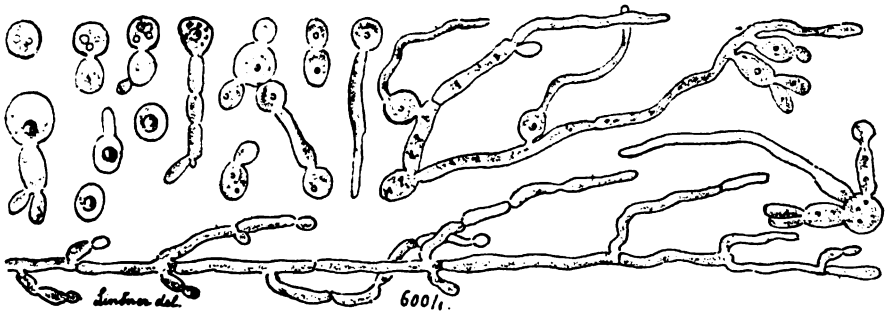


Abb. 121. Monilia candida.

Links oben: Zellen aus einer älteren Kultur von Würzegelatine im Würzetröpfchen auskeimend. Die vielen Fetttropfen werden bei der Keimung nicht verbraucht. Die übrigen Figuren zeigen mycelartige Gebilde, die sich in dem nämlichen Würzetröpfchen entwickelt haben; Querwandbildungen.

Bierhefe, aber sie hält lange an, und der Pilz kann nach Monaten bis 5 Vol.-Proz. Alkohol erzeugen. Auch bei 40° C. gärt dieser Pilz noch flott.

Monilia variabilis

wurde vom Verfasser auf feuchtgehaltenem Berliner Weifsbrot angetroffen, auf dem es einen mehligen Belag bildete. Dieser Pilz ist wegen der Wandelbarkeit seiner Form und wegen seiner Neigung zu Rassenspaltungen von besonderem Interesse. Säet man von dem weifsen Belag der meist torulaähnlichen Sporen einzelne Zellen im Würzetröpfchen aus, dann entstehen zunächst Sprossmycelien, deren Enden in Fäden auswachsen (Abb. 123 Fig. 2), wie wir sie bei dem Oidium lactis antreffen. Die Fäden zerfallen in längere oder kürzere Gliederzellen unter plötzlich auftretenden Zuckungen. Vor dem Zerfall jedoch beginnt am ganzen Umfang der letzteren, insofern sie mit der Luft in Berührung kommen, eine zahlreiche Bildung kleiner kugliger Ansätze, die wie Perlen oder wie Tautropfen daran haften (3b). Innerhalb der Flüssigkeit sprossen aus diesen Ansätzen noch 3—4 weitere Zellen in gerader Reihe hervor (3a). Bei Luftabschlufs tritt die Bildung hefe- und dematiumähnlicher Zellformen auf (Abb. 124 Fig. 13, 14, 15, 16, 17, 18). Nimmt man von älteren Kulturen in Würze einerseits die Bodensätze, andererseits die Hautbildungen als Ausgangsmaterial zu einer neuen Züchtung aus einer Zelle, dann geht aus den ersteren eine Generation hervor,

welche auf Würzegelatine ein ganz abweichendes Wachstum zeigt, so dafs man einen ganz fremden Organismus vor sich zu haben glaubt. Während man bei Aussaat der torulaähnlichen Sporen einen trockenen, mehligen, weifsen Belag auf Würzegelatine heranwachsen sieht, wird hier die Kultur grau bis gelblichgrau und zeigt eine gekröseartige Faltung (Fig. 122). Das Mikroskop zeigt uns hier gestreckte und gleichzeitig gekrümmte und um die Längsachse gedrehte Zellen, die in flockigen Verbänden liegen, in deren Mitte Riesenzellen häufig sind (Abb. 124 Fig. 24). Erst nach 10—14 Tagen tritt am Rande der Gelatinekultur an vereinzelten Stellen die Luftform wieder auf. Impft man aus der Mitte über auf ein neues Würzegelatinefläschchen, dann wiederholt sich dieselbe Erscheinung. Impft man jedoch von der Luftform vom Rande ab, dann entsteht sogleich ein weifser, mehliger Belag.

Abb. 122.
Rassenspaltung bei Monilia variabilis.
Gleichaltrige Kulturen auf Würzegelatine.

Die Nachzucht von der Haut einer älteren Kultur liefert in Würze zumeist torulaähnliche Generationen, wie in Abb. 124 Fig. 20 und 26. Auf Würzegelatine übertragen entsteht ein mattgrauer Belag, wie bei einer richtigen Torulahefe; nach einigen Tagen jedoch sieht man schon weifse Flecken erscheinen, die mehligtrockene Luftform des Pilzes. Während die Nachzucht vom Bodensatz in Würzeflaschen Boden und Wandung hautartig überzieht, um schliefslich in lauter gröfseren Schollen auseinanderzubrechen, wobei die Flüssigkeit völlig klar bleibt, entsteht bei der Nachzucht der Deckenbildung eine lehmige Trübung der Flüssigkeit mit einem gelblichweifsen Sediment, das aus Zellen besteht, die zumeist der elliptischen Hefe entsprechen.

Eine andere eigenartige Kultur auf Würzegelatine geht aus der dematiumähnlichen Generation hervor (Abb. 124 Fig. 18).

Hier ist der Belag feucht-glänzend, wie bei Dematium pullulans. Diesen Zustand erhält man immer wieder, wenn man rechtzeitig überimpft; läfst man jedoch die Kultur älter werden, dann treten alsbald

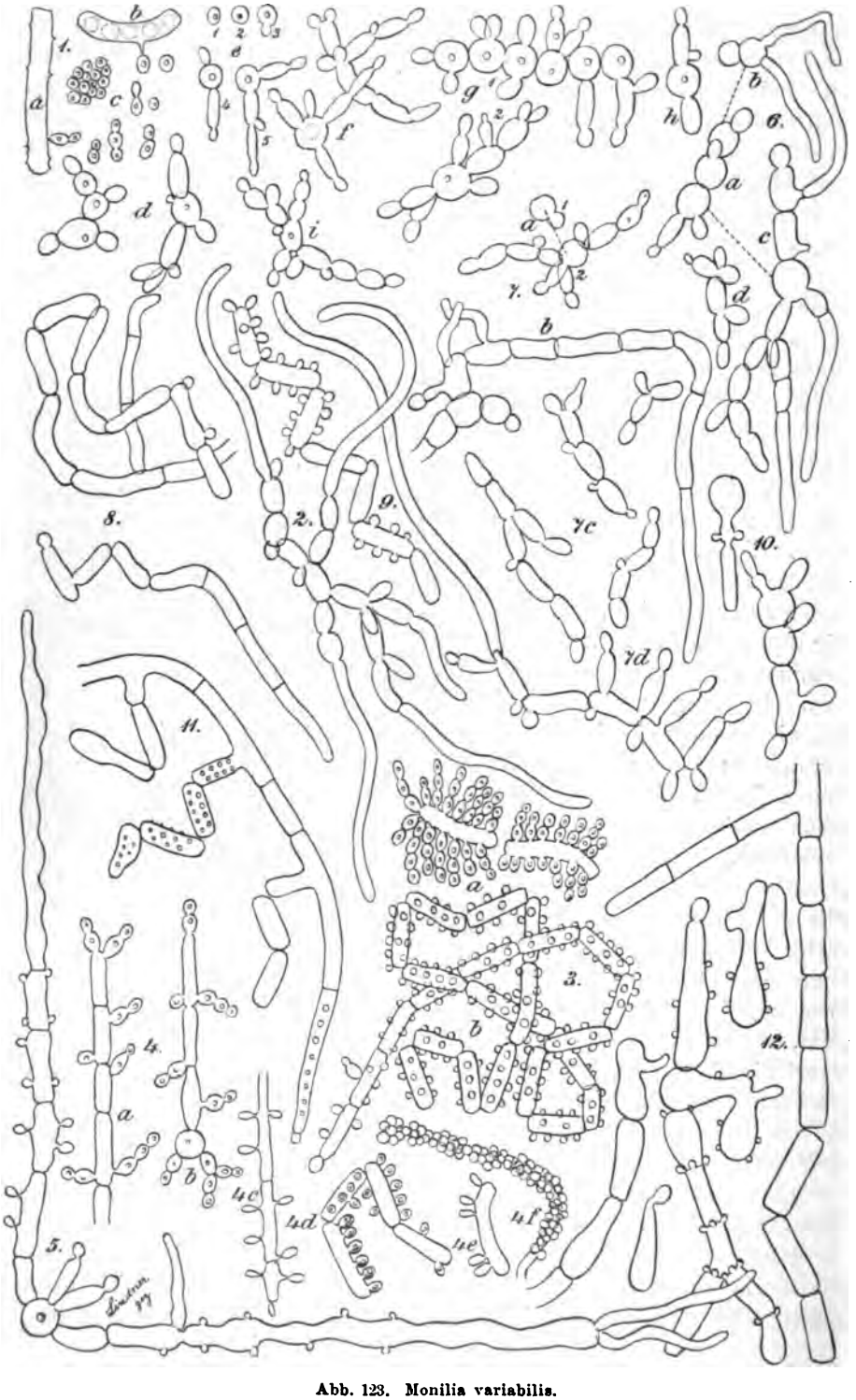


Abb. 123. Monilia variabilis.

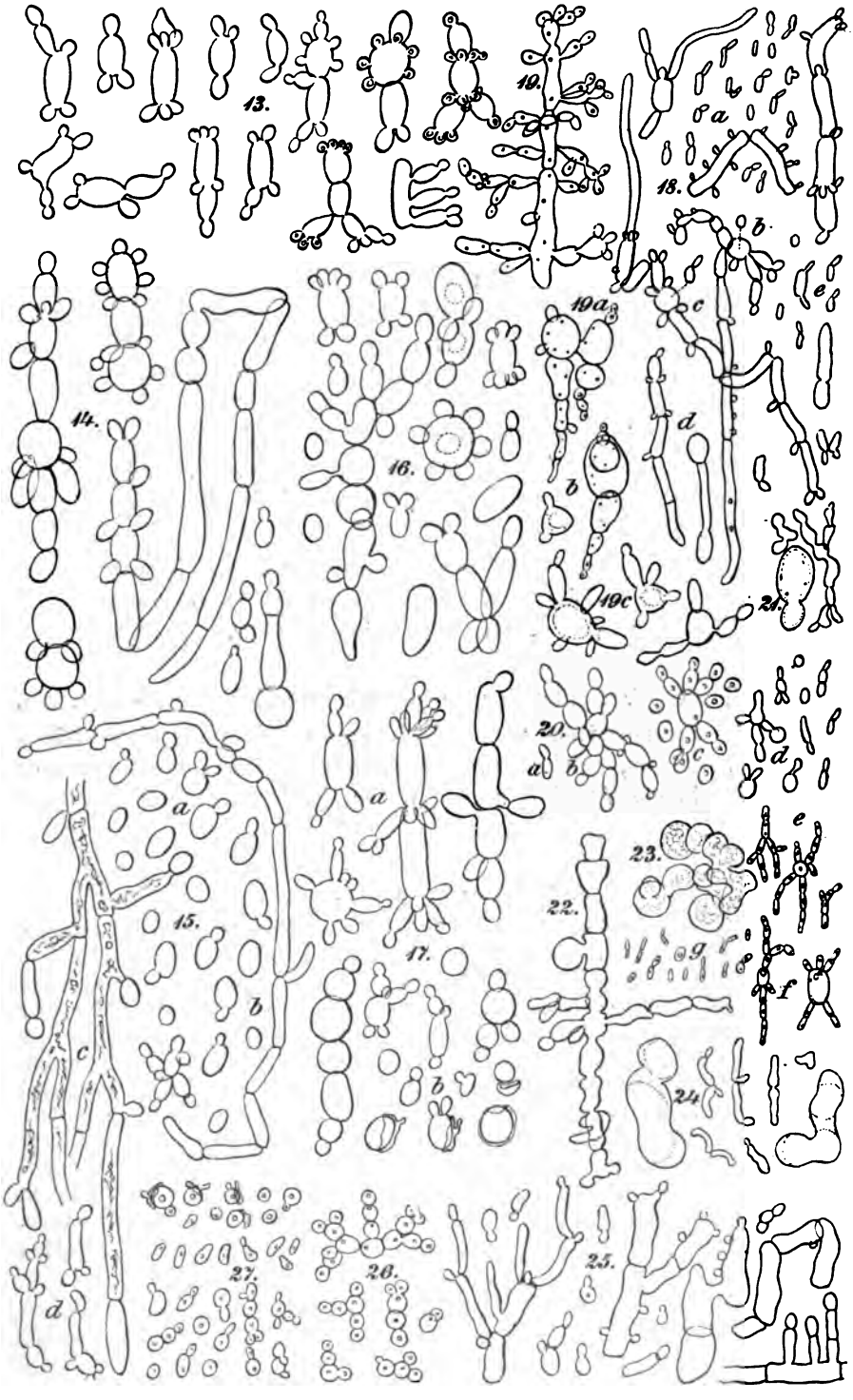


Abb. 124. Monilia variabilis.

die mehligen Flecke der Luftform wieder auf. Der feucht-glänzende Belag bestand vorwiegend aus winzigen Zellen.

Diese, bei Luftabschlufs in Würze wachsen gelassen, schwellen zum Teil aufserordentlich an und geben eine Generation, die man mit der elliptischen Hefe, ja sogar mitunter mit Kulturhefen verwechseln könnte. Manche der winzigen Zellformen besitzen die Dimensionen eines kleinen Bacillus.

Wir haben also bei unserem Pilz eine unglaubliche Vielseitigkeit der Formausbildung beobachtet; wir finden Anklänge an das Oidium lactis, an Torulahefen, an S. cerevisiae, ellipsoideus, exiguus, an S. Mycoderma, endlich an Dematium pullulans und an die Chlamydosporenbildung der Mucorarten. — Einzelne von diesen Entwicklungszuständen lassen sich künstlich durch geeignete Kultur lange Zeit erhalten, ohne dafs Rückschläge in die Stammform erfolgen. Vielleicht gelingt es, solche durch geeignete Mittel überhaupt zu verhindern. Wir würden dann Dauerrassen vor uns haben. (Näheres siehe Wochenschrift für Brauerei 1898 Seite 212.)

In Würze tritt nur eine schwache Gärung auf. In einem gröfseren Kupferkolben mit 5 Litern Würze war letztere in 5 Monaten von 12,5—9,12 Balling vergoren, und hatten sich 1,4 Gew.-Proz. Alkohol gebildet.

Bezüglich des Verhaltens gegen verschiedene Zuckerarten s. S. 196.

Eine im Sommer 1900 von Král bezogene Reinkultur dieses Pilzes hatte das Vermögen, trockne, mehlige Beläge zu bilden, verloren; statt der torulaähnlichen Abschnürungen waren langgestreckte Zellen oder längere Fäden hervorgesproſst.

Erläuterungen zu Abb. 123.

Fig. 1. a und b grofse oidiumartige Zellen mit torulaähnlichen Seitensprossen c. Letztere einzeln oder in Sprossung oder in Häufchen zusammengeklebt. Von dem weifsen, mehlartigen Schimmelbelag eines mit Würze und Wasser angefeuchteten Weifsbrötchens (Berliner „Knüppel"). Bei a deuten eine Anzahl warzenförmiger Basidien die Stellen an, wo die seitlich erzeugten torulaähnlichen Konidien erzeugt wurden. d, e, f, g, h Keimungsbilder der Torulaform bei verschiedenen Temperaturen in der Tröpfchenkultur in gehopfter Würze, d aus einer 2tägigen Kultur bei 6° R. (= 7,5° C.), $e_{1, 2, 3}$ aus einer Keimung einer Spore bei 15° R., $e_{4, 5}$ aus einer 1tägigen Kultur bei 15° R. (= 18,6° C.), f aus einer 1tägigen Kultur bei 21° R. (= 27° C.), g_1 und $_2$ aus einer 1- und 2tägigen Kultur bei 25° R. (= 31° C.), h aus einer 1tägigen Kultur bei 30° R. (= 37° C.), i aus einer 1tägigen Kultur bei 15° R. (= 18,6° C.). Die Mutterzelle ist aus einem Vaselineinschlufspräparat entnommen.

Fig. 2. Gewöhnlicher Verlauf der Keimung einer torulaähnlichen Konidie; die Endglieder fadenartig verlängert.

Fig. 3. Zerfall der Fäden in oidiumartige Glieder und gleichzeitiges Aussprossen kleinkugeliger Zellen auf der ganzen Oberfläche des Fadens.

Fig. 4. a, b, c, d, e Bilder aus einem Würzetröpfchen, in welchem eine Menge torulaähnlicher Konidien zur Aussaat gekommen war. Die seitlich entstandenen Konidien sprossen, noch am Faden sitzend, weiter aus, ähnlich wie eine typische Torulahefe. f ein fruktifizierender Faden, der über den Tropfen hinausgewachsen war.

Fig. 5. Keimung einer torulaähnlichen Konidie im Würzetröpfchen. Ohne erst Sprofsmycelien zu bilden, wachsen sogleich lange Fäden aus, die sogleich wieder fruktifizieren. Die Aussaatspore stammt aus einem Sediment einer 10tägigen Würzekultur mit hoher Würzeschicht.

Fig. 6. Keimung von Zellen von dem Aussehen der Kulturhefe in der Tröpfchenkultur. Die Gruppe a zerfällt, und die Teilzellen wachsen zum Teil in Sprofsverbänden, zum Teil in Fäden aus. Nach einigen Tagen findet man Gruppen wie d von dem Aussehen einer elliptischen Hefe.

Fig. 7. a wächst aus zu der Gruppe a_2, b, c und d Zellgruppen aus einer Tröpfchenkultur; in einzelnen Tröpfchen Zellgruppen wie bei c sehr häufig.

Fig. 8 und 9. Oidiumartige Bildungen im Sediment einer Würzekultur.

Fig. 10. Grofszellige Bildungen aus dem Sediment einer Würzekultur.

Fig. 11. Ausläufer einer Kolonie in Würzegelatine. Die oidiumartig gebrochenen Seitenäste beginnen schon wieder mit der Aussprossung torulaartiger Zellen.

Fig. 12. Oidium- und dematiumartige Bildungen aus den flockigen Teilen des Sediments einer 4 Wochen alten Würzekultur. Zellen von aufserordentlichen Dimensionen. Die lange Zellenreihe genau einem zerfallenden Oidiumfaden entsprechend.

Erläuterungen zu Abb. 124.

Fig. 13. Aus einer Tröpfchenkultur mit einer Aussaat von Zellen aus einem Sediment einer Würzekultur; halb Saccharomyces-, halb Dematiumcharakter.

Fig. 14. Zellgruppen, durch Luftabschlufs (im Vaselineinschlufspräparat) in Würze entstanden aus torulaähnlichen Konidien wie in Abb. 123 Nr. 1c. Die Gebilde erinnern in Form und Gröfse an die Chlamydosporen bei Mucorarten (Mucorhefe).

Fig. 15. Aus demselben Präparat, ca. 1 Woche später; es überwiegen die saccharomycesähnlichen Zellen (wie bei a); hin und wieder treten oidiumartige Ketten auf. c stellt ein zum Teil abgestorbenes Mycelstück dar, dessen Endigungen von kräftigen Chlamydosporen gebildet werden. d sind Sprofsverbände, welche den Pastorianustypus zeigen.

Fig. 16 und 17. Aus einem anderen, ebensolchen Präparat, in welchem nur einige Luftblasen belassen waren. Im allgemeinen treten dieselben Bilder auf. Bei 17a wirtelige Aussprossung an der Einschnürung sehr langer Zellen; bei b Gruppe aus kulturhefeähnlichen Zellen bestehend, die zum Teil die äufsere Haut abwerfen.

Fig. 18. In verschiedenen Würzestrichen einer Tröpfchenkultur waren winzige Zellformen, untermischt mit dematiumähnlichen Mycelstücken, aufgetreten (Gruppe a).

Von 2 winzigen Zellen b und c dieser Gruppe wurden die Keimungsbilder erhalten, welche darunter gezeichnet sind; die von den punktierten Linien getroffenen Zellen sind die Mutterzellen der neuen Verbände. d und e wurden bei dem Älterwerden der Tröpfchenkultur abgegliedert vorgefunden. Die Tröpfchen wimmelten von derartigen Elementen.

Fig. 19. Bilder aus einer Tröpfchenkultur, zu der als Aussaatmaterial Zellen aus der Decke einer 4 Monate alten Kultur in Würze gedient hatten. Inmitten der

Zellenhaufen bildeten sich zahlreiche grofsblasige Elemente (19a), die nach aufsen Fortsätze mit immer schmäler und kleiner werdenden Gliedern ausstrahlten (b). Nach dem Zerfall dieser Fortsätze sprossen die Gliederzellen wie in 19c aus.

Fig. 20. Von der 4 Monate alten Deckenvegetation wurde Zelle a in Würzetröpfchen isoliert und auskeimen gelassen. Es entstanden zunächst Sprofsverbände (b). Diese zerfielen unter teilweiser Anschwellung eines Gliedes, und alsdann wurde eine torulaähnliche Sprofsgeneration von ihnen abgegliedert (c). Nach mehreren Tagen endlich wurden auch winzige Formen wie in d, e, f und g bemerkt. Auffällig ist die Aussprossung der grofsen oidiumartigen Zelle in f; die Sprossen sind nicht mehr kugelige, sondern cylindrische Zellen. g erinnert wieder an die winzigen Dematiumformen von Nr. 18a.

Auf Würzegelatine übergeimpft bildet sich in kurzer Zeit der schneeweifse mehlige Belag der gewöhnlichen Luftform.

Fig. 21 und 22. Das Aussaatmaterial für die Tröpfchenkultur stammt aus der 4 Monate alten Würzekultur, nur ist es dem Sediment entnommen. Auch hier bilden sich Riesenzellen. Nr. 23 stellt einen Zellenkomplex dar von stark angeschwollenen Zellen, der in einem Tröpfchen nach 24 Stunden sich gebildet hat. Da andere Zellen nicht vorhanden waren, wurde von der Nachkommenschaft später eine Überimpfung auf Würzegelatine gemacht. Hier, im Gegensatz zu der vorigen Luftform, bildete sich ein mattglänzender Belag mit gekröseartigen Falten; erst nach 14 Tagen gingen aus den Rändern der Kultur an vereinzelten Stellen weifse Beläge, wie sie der Luftform eigentümlich sind, hervor.

Fig. 24. Die hier gezeichneten Zellen stammen von der Gruppe in Fig. 23 ab, sind jedoch erst nach einigen Tagen in der Tröpfchenkultur zur Ausbildung gekommen. Die kahmartig verlängerten, gekrümmten und gedrehten Zellformen finden sich später auch in dem gekröseartigen Belag auf Würzegelatine wieder.

Fig. 25 sind Zellformen aus einer Deckenbildung in einer 13tägigen Würzekultur in einer grofsen geräumigen Gärflasche. Die Zellwandungen erscheinen etwas dick, der Inhalt ist reich an homogenem Plasma. Fetttröpfchen treten fast nirgends auf, auch nicht in den kugeligen Sprossen. Die Decke sah grau und mattglänzend aus und war sehr bröcklig. Zwischen den fadenförmigen lagen häufig exiguusartige Zellelemente.

Fig. 26. Auf der Decke einer 4monatlichen Kultur in ungehopfter Würze von 7,6° Balling hatten sich weifse, mehlige Inselgruppen gebildet. Dieselben zum gröfsten Teil aus torulaähnlichen Sprofsverbänden bestehend.

Fig. 27. Zellen, dem heferingähnlichen Ansatz entnommen, zeigen vielfach Häutung.

Sarcinomyces crustaceus n. sp. (Krustenschimmel).

Diese Art wurde vom Verfasser auf Würzegelatine, die einige Zeit der Laboratoriumsluft ausgesetzt gewesen war, angetroffen. Sie bildete eine auffallend schwarze, wie verkohlte Masse oder wie schwarze Krusten aussehende Vegetation. Das Wachstum war ein schnelles; nach einiger Zeit war die Gelatine völlig aufgezehrt, und in dem Kölbchen war nur noch die Pilzmasse zu sehen. Im Würzefläschchen ist die Vermehrung viel langsamer; die Flocken, welche sich an der Glaswandung festsetzen, nehmen eine dunkelgrüne Färbung an. Im Würzetröpfchen beobachtet

man folgendes: Aus der isolierten Spore (Abb. 125 III c) tritt nach dem Platzen der äufseren Haut ein hefezelläbnliches Gebilde hervor, in dem jedoch bald Querwände erscheinen. Die Teilungen finden bei dem Wachstum so regelmäfsig statt, dafs der neue Zellenkomplex oft genau Würfelform annimmt (k). Die Zellen sind glashell, und gleicht das ganze Gebilde durchaus einer Sarcina maxima. Waren ganze Zellreihen ausgekeimt, dann entstehen Gebilde wie in a und b. Bis jetzt ist noch nichts von einer Färbung der äufseren Zellhäute zu sehen. Nachdem nach Erschöpfung der Würze im Wachstum der klumpenähnlichen Zellenkomplexe Stillstand eingetreten ist, beginnt ein allseitiges Aussprossen von hefeähnlichen Zellen wie in a und i; dieselben sprossen aber selbst nicht weiter aus und sind sehr empfindlich. Versuche, sie zum Auskeimen zu bringen, schlugen bisher fehl. Dieser Pilz ist, ebenso wie der folgende, besonders interessant, weil er alle Bestandteile der Würze und Gelatine zu assimilieren vermag.

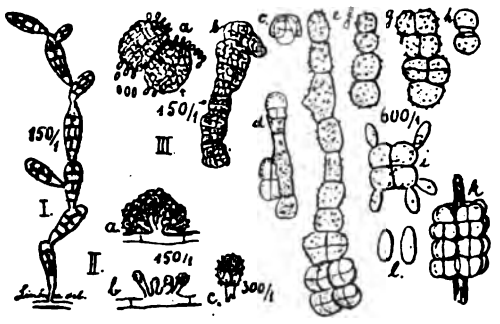


Abb. 125.
I Septosporium-(Alternaria-)Art. 150fach.
II a—c Epicoccum purpurascens. a Sporenhaufen; b Bildung von Sporen auf kurzen Seitenästen; c isolierte Spore mit splitterig abgebrochenem Stiel. a und b 150fach. c 300fach.
III a—k Sarcinomyces crustaceus. a grofser Zellenkomplex, im Würzetröpfchen herangewachsen, mit dem Aussprossen beginnend; b langer Zellenkomplex, aus einer Zellenreihe herangewachsen; c Auskeimen einer Zelle, Abwerfen der äufseren Haut; d das Hervortreten der jungen Zellen aus dem alten Faden; e, f, g Zellreihen, die bereits eine warzige, grünliche Haut erhalten haben; h Auseinanderbrechen zweier semmelförmig zusammengelagerter Zellen (erinnert an die Vermehrung der Desmidiaceen, vergl. Abb. 123 d); i Sarcinaform, aussprossend; k Sarcinaform, aus einer Zelle eines dünnen Fadens herangewachsen; abgeworfene Konidien. 600fach.

Sarcinomyces albus n. sp. (weifser Paketpilz).

An den Krustenschimmelpilz reiht sich am natürlichsten ein anderer, von Schönfeld bei einer Untersuchung der Gärkellerluft der Versuchsbrauerei gefundener Pilz an.

Er wächst auf Würzegelatine zu einer weifsen, später schwachgelblichen, crêmefarbenen Riesenkolonie heran, die bald eine grobgriesige Struktur annimmt, bald mit glatter Oberfläche, wie etwa eine Torulahefe, wächst. In letzterem Falle tritt die Paketbildung zurück, und es zeigen sich vorwiegend Zellformen, die an die Spalthefen erinnern.

Unter dem Deckgläschen lassen sich die griesigen Massen durch gelinden Druck weiter zerkleinern. Wir bekommen jetzt Bilder, wie sie

uns die Sarcina maxima giebt; drücken wir noch mehr, dann zerfallen auch diese Pakete, und wir bekommen schliefslich Massen, die wie zusammengeballte Unterhefe aussehen. Die körnige Beschaffenheit des Zellinnern und die Zellgröfse machen die Ähnlichkeit noch frappanter. Beiläufig sei hier erwähnt, dafs man früher die Hefe zu den Sarcina-Organismen rechnete.

Verfolgt man die Entwicklung einer einzelnen Zelle, so bekommt man Bilder wie in 1—7 der nachstehenden Abbildung. Die genaue Beobachtung der Teilungsvorgänge wird in späteren Stadien sehr erschwert. Im vorliegenden Fall sind besonders interessant die Figuren 3, 4, 5 und 6.

Abb. 126. Sarcinomyces albus.

1—7 Entwicklung von einer Zelle. a 4zelliger, b 64zelliger Komplex. c Zellen, durch Zerdrücken eines grofsen Paketes isoliert. d fadenförmige Ausläufer. e Zelle, in welcher das Plasma bereits sich gruppiert hat. f Keimung einer semmelförmig gestalteten Zelle. g Bildung neuer Zellen innerhalb einer Mutterzelle. h—o Bilder aus einer mehrtägigen Kultur in Würze.

Es keimt zunächst die obere Zelle seitwärts aus, dann teilt sie sich, und beide Hälfte sprossen nach oben aus und teilen sich wieder, so dafs das Paket fertig ist. Die Beobachtungen und Zeichnungen stammen von Herrn Dr. Schönfeld.

Die Bildung hefeähnlicher Sprofszellen, wie bei der vorigen Art, wurde in den Kulturen nicht beobachtet. Der Pilz wächst in Würze ziemlich langsam. Eine Gärung findet nicht statt.

Fusisporium moschatum (Kitasato), Fusarium hordei (Matthews).

Die rote Farbe, welche wir bei vielen Malzkörnern auf der Tenne oder der Schwelke antreffen, verrät uns die Gegenwart eines Schimmelpilzes, der von Matthews als eine Fusariumart bezeichnet wurde. Gerste, welche von diesem Pilz befallen ist, zeigt nur ein krankhaftes Keimungsbild oder bleibt überhaupt ungekeimt. Dieser Pilz ist aufser durch die Färbung seiner Sporenmassen auch durch die sichelförmige Gestalt derselben sehr gut charakterisiert, ferner aber noch dadurch, dafs er in Würze oder auf Würzegelatine einen intensiven Moschusgeruch erzeugt. Er ist offenbar identisch mit dem von Kitasato beschriebenen Fusisporium moschatum, vielleicht auch mit dem Selenosporium aquaeductum, von dem Lagerheim erzählt, dafs es Wasserleitungen, Turbinen

und Mühlräder derart anfüllen kann, dafs Betriebsstörungen erfolgen; dabei kann der Moschusgeruch so intensiv werden, dafs das Arbeiten in der Nähe im höchsten Grade beschwerlich wird.

Wenn wir von dem Sporenpolster etwas abkratzen und in Würzetröpfchen zur Aussaat bringen, finden wir am folgenden Tage fast alle Sporen ausgekeimt. Die spitzen Endzellen bleiben häufig steril, während die mittleren Sporenabschnitte anschwellen und Keimschläuche bilden. Interessant ist nun die Beobachtung, dafs die Keimschläuche benachbarter

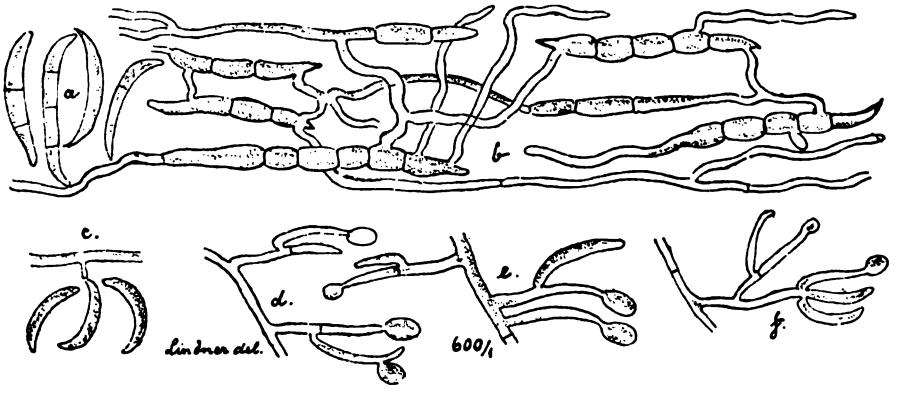


Abb. 127. Fusisporium moschatum. Vergröfserung 600fach.
a Sichelförmige Sporen. b ausgekeimte Sporen, die Keimschläuche untereinander kopulierend. c Abschnürung der sichelförmigen Sporen. d, e, f Ansätze zu ähnlichen Bildungen.

Sporen miteinander verwachsen. Aus den vielen Sporen bekommen wir ein einziges Mycel.

Eine Abschnürung von Sporen beobachtet man in den Würzetröpfchenkulturen nur selten. Der Vorgang ist dann so, dafs ein ganz kurzes, papillenartiges Seitenästchen entsteht, und aus diesem entwickelt sich die sichelförmige Spore. Nach der Reife fällt sie ab, und eine neue entsteht. So findet man später einen kleineren oder gröfseren Haufen Sicheln zusammenliegend (Abb. 127). Gebilde, wie sie in d, e, f gezeichnet sind, findet man auch öfter auf Malzkörnern vor, und es dürften dieselben wohl auch unserem Pilz angehören. — In älteren Kulturen auf Würzegelatine verschwindet der Moschusgeruch allmählich. Sonderbarerweise gelingt es nicht, auf Würzegelatine ein Sporenpolster zu erhalten. Die Fäden wachsen nur zu mehr oder weniger dicken Strängen zusammen, die bis 1 cm hoch sich in die Luft erheben. Die Fäden sind dabei mit vielen Fetttröpfchen angefüllt.

Abb. 128.
Fusariumähnlicher Pilz aus einem faulen Apfel.

Auf Kartoffeln kommt auch ein Fusarium vor, F. solani, welches die Trockenfäule derselben bewirkt. Vgl. S. 124.

Mitunter nimmt man an solchen Kartoffeln ebenfalls einen Moschusgeruch war.

In einer Adhäsionskultur mit dem fauligen Brei des Fruchtfleisches eines Apfels wuchs ein Pilz von ähnlichem Charakter (Abb. 128).

Nunmehr mögen einige Pilzformen Erwähnung finden, die häufig in Leitungen oder an feuchten Wandungen vorkommen, und welche durch

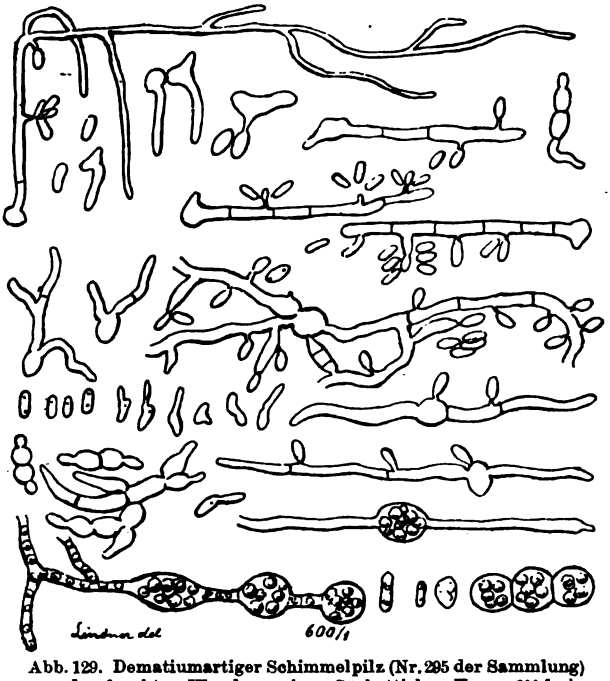


Abb. 129. Dematiumartiger Schimmelpilz (Nr. 295 der Sammlung) von der feuchten Wandung eines Gärbottichs. Vergr. 600fach. Bilder aus einer Tröpfchenkultur in Würze. Unten: Fadenstücke aus einer alten Kultur mit reichlicher Bildung von Fetttröpfchen. Dauerzellen.

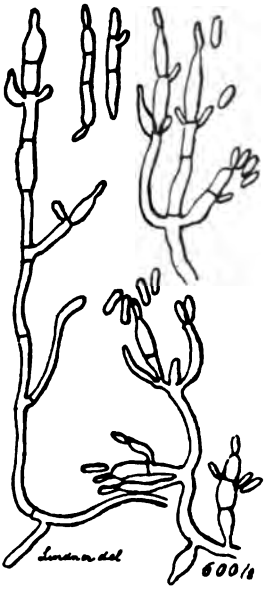


Abb. 130. Kerzenschimmel aus einer Würzeprobe vom Kühlapparat (Nr. 303). Vergrößerung 600fach.

Abschnürung kleiner, länglicher Sporen von dem Aussehen kleiner Hefeformen ausgezeichnet sind.

Der in Abb. 129 dargestellte Pilz erinnert bezüglich der Art der Abschnürung der kleinen Sporen sehr an Dematium pullulans; auch bezüglich der Dauerzellen, welche in älteren Kulturen auftreten. Auf Würzegelatine im Kölbchen ausgesäet, bildet er ein erst weifses, dann schmutzigrotes bis bräunliches, kurzwolliges Luftmycel. Die Unterseite der Kultur färbt sich schön rot und faltet sich in sehr regelmäfsig angelegten radiären Strahlen. Die einzelnen Fäden verwachsen unter-

einander zu dickeren Strängen, welche sich stark kräuseln. Die kleinen meist etwas länglichen Sporen keimen sehr ungleichmäfsig aus; häufig wächst der Keimschlauch gerade aus, so dafs er mit der Spore wie ein Spazierstock aussieht; aus den einzelnen, durch Querwände abgeteilten Gliedern treten sogleich wieder neue Sporen hervor. Bleibt ein solcher Faden ruhig auf demselben Fleck liegen, dann häufen sich die Sporenmassen wie Wolken um ihn an.

Bei einer Untersuchung einer Würzeprobe vom Kühlapparat fand sich ein Pilz ein, der in der Kultur sich von dem vorigen kaum unterscheiden liefs. Das mikroskopische Bild war jedoch etwas anders. Die sporenabschnürenden Fadenstücke gaben mit der Spore zusammen das Bild einer brennenden Kerze. Dieser Pilz (Nr. 303 der Sammlung) wurde daher vorläufig Kerzenschimmel genannt.

Seine Sporen wurden auch im Kühlwasser der Versuchsbrauerei in grofser Menge vorgefunden. Da das betreffende Wasser in beständiger Cirkulation (zwischen Gärkeller und Kühlmaschine) sich befindet und erst nach längerer Zeit erneuert wird, ist eine solche Anhäufung des Pilzes erklärlich, zumal bei der aufserordentlichen Sporenproduktion.

Bei Luft- und Wasseruntersuchungen häufig anzutreffen ist auch der in Abb. 131 gezeichnete Pilz. Die kugeligen bis länglich-elliptischen

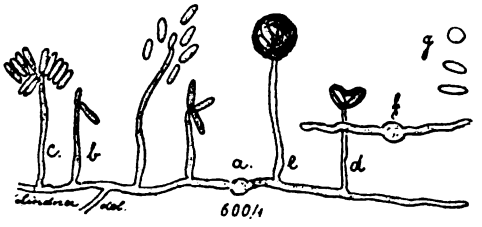


Abb. 131. Wasserkugelpilz (Hyalopus-Art?). Vergröfserung 600fach.
a Ausgekeimte Spore. b, c Konidienträger, die durch Berührung mit dem Deckgläschen die Wasserkugeln nicht frei ausbilden konnten. Die Sporen sind um die Spitze des Trägers gelagert. d und e Wasserkugeln mit Sporen. f Spore keimend. g Sporenbilder.

Sporen keimen in Würze schnell aus; aus dem Tröpfchen wachsen dünne Seitenäste des Mycels heraus in die Luft und schnüren dort der Reihe nach eine grofse Menge Sporen ab. An der Spitze des Konidienträgers wird gleichzeitig Wasser durch die Zellwand gedrückt; es bildet sich mit der Zeit eine gröfsere Wasserkugel aus, in der die abgetrennten Sporen lange Zeit vereinigt bleiben. Interessant ist die Beobachtung, dafs die Wasserkugel mitsamt den Sporen aufserordentlich schnell sich drehen kann, ohne abzufallen. Die Ursachen dieser Rotationsbewegung sind uns völlig unbekannt. Wir können diesen Pilz als Wasserkugelpilz vorläufig bezeichnen. Wie die meisten der vorigen Pilze, stellt er jedenfalls auch

nur eine Entwicklungsform eines höheren Pilzes dar, die es aber nicht gelingt, durch Kultur in die Stammform zurückzuführen[1]). Auf Würzegelatine im Kölbchen bildet er nach Wochen eine schlüpfrige, weiche Masse, die in der zum Teil schon verflüssigten Gelatine schwimmt.

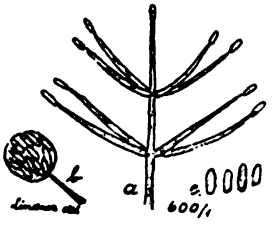


Abb. 132. Verticillium-Art. Vergrößerung 600fach. a Wirtelig verzweigter Konidienträger. b Wasserkugel mit Sporen. c einzelne Sporen.

Seit Jahren Bewohner der kälteren Abteilungen des Panumschen Thermostaten in dem Laboratorium der Versuchsbrauerei ist der verticilliumartige Pilz, den Abb. 132 darstellt. Er überzieht die Stellen der Wandungen, an denen sich Kondenswasser gebildet hat, in Form eines weifsen Gespinstes. Sporen beinahe gleich denen des vorigen Pilzes. Auch Wasserkugeln bildet er an den Enden der im Wirtel zu 4 gestellten Seitenäste.

In Brauereiwässern sehr häufig anzutreffen ist ferner noch ein Pilz, der durch Ausbildung besonderer Fruchtkörper, sogenannter Pykniden, charakterisiert ist. Er wächst auf Gelatine mit einem wolligen Luft-

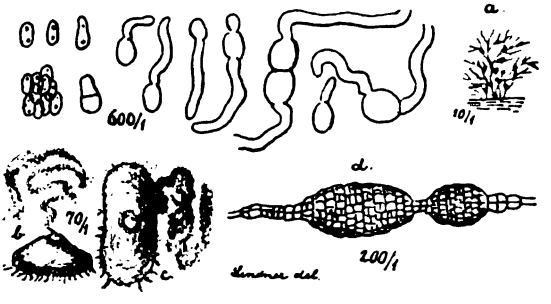


Abb. 133. Pykniden bildender Schimmel. Vergrößerung 600fach.
In der oberen Reihe sehen wir Sporen teils vereinzelt, teils in Häufchen noch zusammenliegend, teils Keimschläuche treibend. Bei a ist das Auftreten der Pykniden innerhalb des Mycels dargestellt; sehr schwach vergrößert, ungefähr 10fach. In b sehen wir reife Pykniden, welche nach Anfeuchtung mit Wasser ihre Sporenmassen entleeren. In d sehen wir die Anfangsstadien der Knotenbildung an einem Fadenstück. Aus den Anschwellungen werden später Pykniden.

mycel, das sich auf radiär angeordneten Wülsten erhebt, welch letztere aber nicht bis an den Rand der Kolonie sich erstrecken, wie bei den Nr. 295 und 303. Die Färbung wird zum Teil rötlich, zum Teil bräunlich; letzteres ist der Fall, wenn das Mycel sich an dem Glase festsaugt, und wenn die Bildung der Pykniden begonnen hat. In dem Fadengeäst

[1]) Es ist deshalb auch nicht angebracht, für alle derartigen Formen Namen zu erfinden, die später doch wieder aufgegeben werden müssen.

erscheinen letztere wie kleine Nester. Bringen wir eine solche Probe zwischen Deckglas und Objektträger in einen Wassertropfen, dann saugt sich Wasser in die Fruchtkörper ein, und nach einiger Zeit treten durch die enge Öffnung desselben die Sporenmassen in Form langer, vielfach sich windender Würste heraus. Jede Spore hat hefenähnliche Form und enthält regelmäfsig 1—2 kleine Fetttröpfchen. Ein einziger Fruchtbehälter erzeugt viele Tausende von Sporen. Die Sporen keimen in frischer Würze sogleich zu Fäden aus, die an bestimmten Stellen knotig anschwellen. Diesem Vorgang geht eine zahlreiche Teilung der Zellen nach den 3 Richtungen des Raumes voraus. Im Innern des Knotens bildet sich eine Höhlung, in welche die umgrenzende Mycelschicht zahllose Sporen abschnürt.

Säet man den Pilz in Würze aus, so können schon nach 3 Tagen an der Glaswandung solche Pykniden gebildet sein. Die bei Luftuntersuchungen in den Luftcylindern entstehenden Kolonien dieses Pilzes fallen sofort durch die schwachbräunliche Färbung sowie durch das punktierte Aussehen auf.

Mehrere der nun folgenden Schimmelpilze treffen wir häufiger an den feuchten Wandungen von Gär- und Lagerkellern oder anderen Örtlichkeiten des Betriebes an. So wurde der in Abb. 134 dargestellte lange Zeit an der Decke des Gärkellers der Versuchsbrauerei beobachtet; er überzog dieselbe zunächst als fein weifser Flaum, der sich später zart grün färbte. Die Verzweigung ist eine ähnliche wie bei dem Verticillium; Äste und Sporen sind kräftiger geformt; letztere gleichen sehr denen des Penicillium glaucum. Bei der Aussaat im Würzetröpfchen finden wir wie bei Fusisporium die Erscheinung, dafs die Sporen sowie ihre Keimschläuche sich untereinander wieder verbinden und so ein zusammenhängendes Geflecht darstellen. Der Keimung der Sporen geht eine starke Anschwellung voraus. Verticillium glaucum ist neben Penicillium luteum und Citromyces Pfefferianus eine der in freien organischen Säuren, namentlich Citronensäurelösungen, häufiger sich einstellende Art. Ein auf essigsaurem Weine gewachsenes Verticillium glaucum entwickelte einen deutlichen Geruch nach frischer Kokosnufsmilch (Rothenbach).

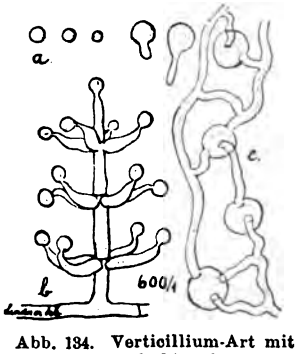


Abb. 134. Verticillium-Art mit grünlich gefärbten Sporen. Vergrößerung 600fach. a Abgefallene Sporen. b wirtelig verzweigter Konidienträger. c Sporen im Stadium der Keimung und der Verbindung durch Kopulationsäste.

In Abb. 135 finden wir einen Pilz, der durch eine lebhafte zinnoberrote Färbung der Sporenmassen ausgezeichnet ist. Es ist das Acrostalagmus cinnabarinus. Dieser Pilz kam u. a. auch auf Hopfendolden und Gerstenähren, welche in einem Reagenzgläschen aufbewahrt wurden, kräftig zur Entwicklung; ferner wurde er an feuchten Wänden häufig beobachtet. Die im Wirtel gestellten Seitenäste tragen wiederum

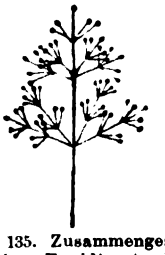


Abb. 135. Zusammengesetzt wirteliger Konidienstand von Acrostalagmus cinnabarinus.

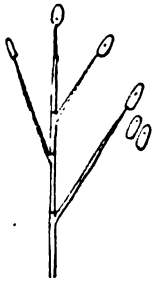


Abb. 136. Acremonium-Art mit traubigem Konidienstand.

Wirtel. Wir haben hier das Schema eines zusammengesetzt wirteligen Konidienstandes.

Abb. 136 zeigt uns einen traubigen Konidienstand eines Acremonium-artigen Pilzes. Der betreffende Pilz fand sich an der Decke der Schwankhalle als weifser Belag vor. An den Enden der Seiten werden nacheinander zahlreiche Sporen abgegliedert, die kleinen Torula- oder elliptischen Hefen ähnlich sind.

Septosporium (Alternaria) bifurcum (siehe Abb. 125 I).

An der Decke der Schwankhalle gefunden, dann noch häufig auf Malz. Letzteres umspinnt der Pilz mit einer bräunlich gefärbten, locker ausgebreiteten Wolle. Die Sporen sind vielzellig; jede Abteilung derselben kann für sich auskeimen. An der Spitze oder in der Nähe der Spitze einer Spore kann sich eine neue Spore bilden, und durch Wiederholung dieses Vorganges erhält man eine ganze Sporenreihe.

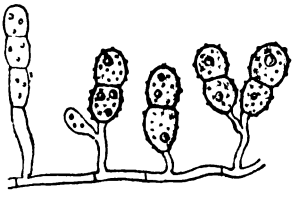


Abb. 137. Schwarz-weifser Schimmelpilz von der Decke der Schwankhalle.

Einen anderen Pilz von der Decke der Schwankhalle zeigt uns Abb. 137. Die Sporen sind durch Querwände geteilt; die Teilungswände sind einander parallel und senkrecht zur Längsachse der Sporen gestellt. Die Sporen bekommen später dicke und dunkel gefärbte, aufsen mit kleinen Wärzchen besetzte Membranen; es kommt

aber auch vor, dafs der untere Teil der Spore ungefärbt bleibt. Auf Würzegelatine wächst zunächst ein schneeweifses Luftmycel; später beginnt in der Mitte derselben allmählich die Schwärzung der Sporen und schreitet nach dem Rande zu fort.

Epicoccum purpurascens (purpurfarbener Schimmel) (siehe Abb. 125 II, Seite 301), dessen Farbenpracht wir schon bei unseren Luftuntersuchungen kennen gelernt haben, treffen wir in unscheinbarer Form häufig auf abgerindeten Baumstämmen, auf Getreidehalmen (Wildhafer u. s. w.), auf feucht gehaltenem Papier oder Pappe an. Das Sporenlager stellt ein kleines halbkugeliges Polster dar, das sich mitten aus einem rotgefärbten Mycelium erhebt. Die Sporen sind bräunlichgelb gefärbt und entstehen als kleine kugelige Anschwellungen auf dicht gedrängt stehenden, kurzen und brüchigen Stielen. Sticht man mit einer Nadel in ein solches Sporenhäufchen, dann spritzen die Sporen auseinander. Die Wandung der Spore wird später infolge Bildung zahlreicher kleiner Wärzchen etwas rauh. Das Innere der Spore teilt sich nachträglich durch eine Anzahl Querwände. Jede Teilzelle kann für sich auskeimen. Die Teilungen sind zumeist ziemlich regelmäfsig.

Auf Nährgelatine kultiviert, erzeugt er ein herrliches weifses Luftmycel, das nichts von der intensiv purpurroten Färbung des in der Gelatine wurzelnden Mycels durchschimmern läfst. Wollen wir in Objektträgerkulturen die Bildung der Sporenlager und der Sporen, sowie die fortschreitende Färbung des Mycels verfolgen, dann benutzen wir am besten Pflaumendekoktgelatine, nicht Würzegelatine, denn auf letzterer bleibt das Mycel merkwürdigerweise steril. — Untersuchen wir das Mycel etwas eingehender bei stärkerer Vergröfserung, so werden wir ziemlich häufig die Erscheinung antreffen, dafs im Innern der Fäden sich manchmal durch lange Strecken hindurch andere Fäden zeigen, welche ihre Entstehung von den Querwänden genommen haben. Einzelne Zellen suchen auf diese Weise andere Zellen desselben Fadens auszusaugen.

Abb. 138 zeigt uns einen an der Decke der Schwankhalle der Versuchsbrauerei häufiger beobachteten Pilz. Er erscheint in Form kleiner schwarzer Punkte. Unter dem Mikroskop stellen sich uns dieselben als Fruchtkörper dar (Perithecien), die am Grunde von einem strahlenartig sich ausbreitenden Mycel umgeben sind. Zerdrücken wir einen solchen Körper, dann kommen eine Menge Schläuche zum Vorschein, die mit vielzelligen, langgestreckten Sporen ausgefüllt sind; es sind ihrer gewöhnlich 8. Am oberen Ende der Schläuche sehen wir in der verdickten Wandung einen schmalen Kanal; durch diesen werden die Sporen entleert. Die Sporen sind gelblich-braun gefärbt und enthalten Fett-

tröpfchen in gröfserer Anzahl. Am Grunde der Schläuche entspringen noch andere Fäden, sog. Paraphysen, die ebenso lang werden wie die Schläuche, aber dünn und inhaltsarm bleiben. Der Pilz gehört zu der Gruppe der Ascomyceten. Die Sporen sind vielzellige „Ascosporen".

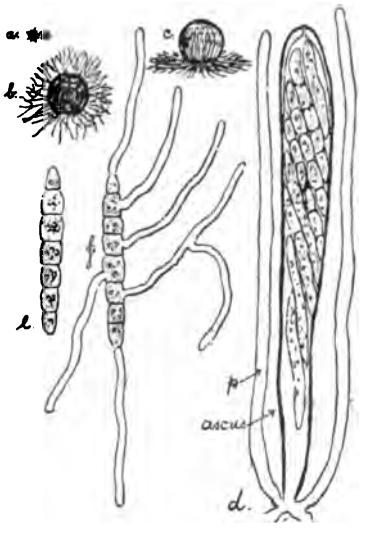


Abb. 138. Kugelpilz von der Decke der Schwankhalle.
a der Pilz in natürlicher Gröfse. b von oben gesehen. c von der Seite. b und c ungefähr 15fach vergröfsert. d Ascus mit acht langgestreckten, 7—8fach septierten Sporen. p Paraphysen. e isolierte Spore. f eine solche auswachsend; fast jede Teilzelle bildet einen Keimschlauch.

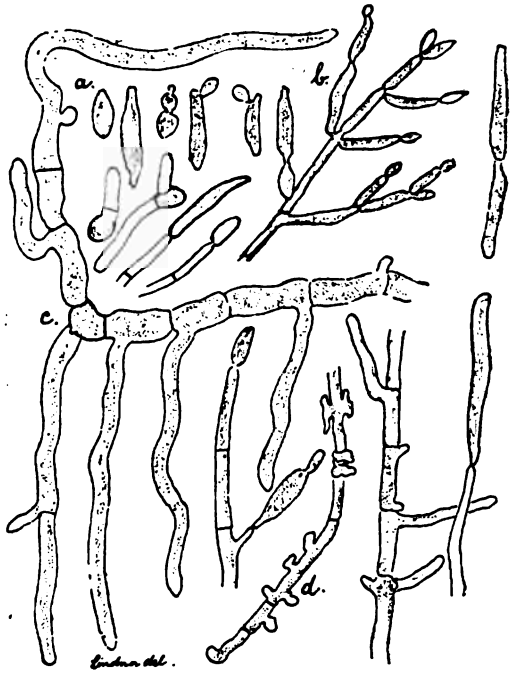


Abb. 139. Penicillium cladosporioïdes. Vergröfserung 600fach.
Rechts von a sehen wir verschieden gestaltete Sporen, einige davon sind in Keimung begriffen. b verzweigter Konidienträger. Die einzelnen Abschnitte der Zweige beim Zerfall Sporen darstellend. c junges Mycel, aus der Spore bei c entstanden. d Mycelfaden mit Haftorganen.

Wie bei Septosporium kann auch hier jede Teilzelle der Ascospore für sich auskeimen.

Hormodendron (Penicillium) cladosporioïdes (Cladosporium herbarum *Link*),

auf Malz, auf den Blättern des Hopfens, an feuchten Wänden und Holzthüren, an feuchten Fensterscheiben häufig zu finden, verursacht nach Zoebl die Braunspitzigkeit der Gerste. In den Luftcylindern fällt es uns oft genug durch die olivgrünen Sporenmassen und durch die dunkelgrüne Färbung der dem Glase anhaftenden Mycelschicht auf.

In Würzetröpfchen bildet es ein ziemlich verzweigtes Mycel, dessen Wände sich frühzeitig gelblich-braun färben, und dessen Inhalt reich an

Fetttröpfchen wird. In die Luft ragen schon nach 2 Tagen kleine Konidienträger, die an der Spitze zu einem zierlichen Geäst aussprossen. Kommt ein solcher Konidienträger in Berührung mit dem Deckgläschen, dann zerfällt er leicht in die einzelnen Gliederzellen. Dieselben sind in Form und Gröfse durchaus verschieden, meist etwas langgestreckt und von scharfen Ecken begrenzt; die Zellwand ist grünlich bis braun gefärbt. — An vielen Mycelfäden finden wir lappige Auswüchse (Saugapparate), welche sich der Wandung anpressen und so das Mycel befestigen.

Ob dieser Schimmelpilz mit demjenigen identisch ist, welcher nach Frank und Lopriore die sog. „Schwärze des Getreides" verursacht, ist noch nicht entschieden. Eine Dematium-artige Aussprossung des Mycels, wie es Lopriore bei seinem Cl. herbarum beobachtet hat, wurde bisher bei unserem Pilz in Würze nie bemerkt.

Gruppe der Pinselschimmel (Penicillium-Arten).

Während man früher jeden grünlich-blauen Schimmelrasen als Pencillium glaucum zu bezeichnen pflegte, hat die neuere Forschung gezeigt, dafs es hier wohl definierte Species giebt. So hat Wehmer unter den Fäulnispilzen auf Südfrüchten aufser Penicillium glaucum noch ein Pencillium olivaceum und P. italicum beschrieben (auf Apfelsinen und Citronen häufig). Mikroskopisch ist die Unterscheidung der drei Arten oft aufserordentlich schwierig. Ersteres hat vorwiegend kugelige, letztere beiden ellipsoidische Sporen. P. italicum und P. glaucum sind die beiden einzigen Arten, von denen wirklich Sklerotien bekannt sind.

Von P. olivaceum sind Fruchtkörper unbekannt.

Penicillium luteum und P. aureum bilden nur weiche Perithecien. P. luteum hat anfänglich citronengelbe sterile Hyphen, die später braune, mischfarbige Sporenrasen geben.

Dann ist noch ein P. roseum von Wehmer gefunden worden[1]).

Ein Penicillium brevicaule wird jetzt vielfach als Reagenz auf arsenige Säure benützt, die es zu Arsenwasserstoff reduziert. Arsenhaltige Tapeten werden, sofern sie an feuchten Wänden angebracht sind, durch die Wucherungen dieses Pilzes gesundheitsschädlich.

Der grüne Pinselschimmel, Penicillium glaucum,

kommt von allen Pilzen wohl am häufigsten vor. Die Sporenmassen sind hellgrün oder bläulich-grün. Die Konidienträger sind wirtelig verzweigt und schnüren an flaschenförmigen Endstücken (Sterigmen) kugelige

---

[1]) Das bakteriologische Laboratorium von Král, Prag I, Kleiner Ring 11, giebt genannte Arten jederzeit in Reinkulturen ab.

Sporen ab, die zu ganzen Ketten vereinigt bleiben können. Die Sporen sind fettigen Inhalts, daher benetzen sie sich schwer mit Wasser und schwimmen als trockener Staub auf dessen Oberfläche. Alkohol benetzt

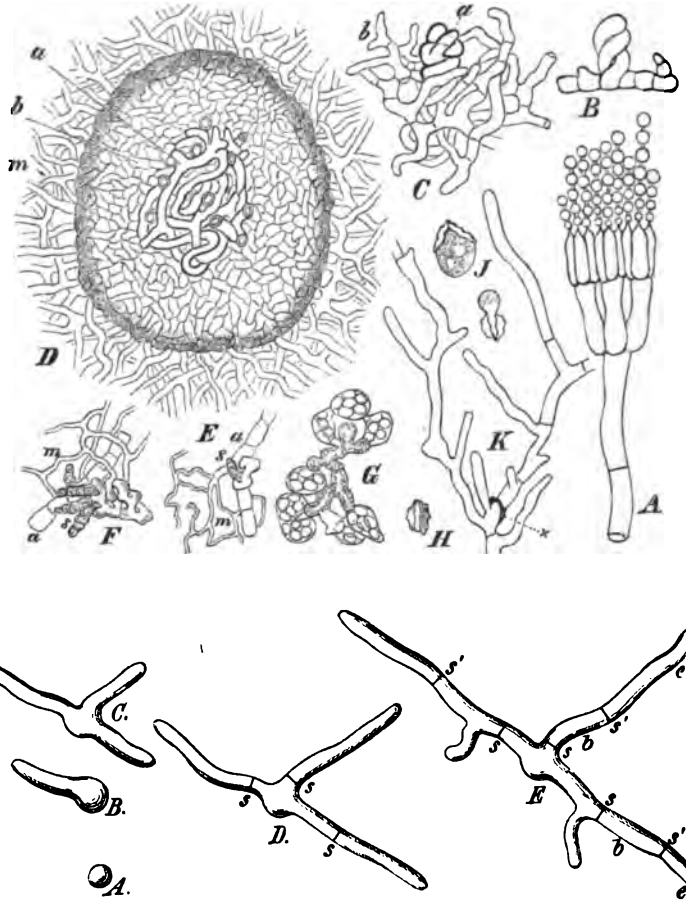


Abb. 140. Penicillium glaucum nach Brefeld und Zopf.

A Konidienträger. B Geschlechtsorgane. C Anlage des Fruchtkörpers (a das sich weiter entwickelnde Karpogon, b sterile Fäden). D sehr junger Fruchtkörper im Querschnitt (a ascogene Hyphen, b steriler Teil des Fruchtkörpers, m Mycelium). E und F ascogene Hyphen (a) mit jungen Schlauchanlagen (s) und sterilen, mycelartigen Fäden (m) aus einem weiter entwickelten Fruchtkörper. G Gruppe von Schläuchen mit Sporen. H Spore. J keimende Sporen. K junges Mycelium (bei x die Spore).

A—E (unten) Keimung der Konidie nach Zopf (stärkere Vergrößerung). A Konidie vor der Keimung. B dieselbe hat einen Keimschlauch getrieben. C es sind drei Keimschläuche gebildet. D jeder Keimschlauch zeigt gegen die Spore hin eine Scheidewand (s). E jeder Keimschlauch hat sich durch eine weitere Scheidewand (s') in eine Endzelle und eine Binnenzelle (b) gegliedert.

sie sofort. Dieser Pilz ist allenthalben beschrieben, und beschränken wir uns hier auf die Erklärung der Abbildungen 140 und 141, von denen letztere einer Tröpfchenkultur entnommen sind. Der Frucht-

stand ist hier vielfach nicht zur regelmäfsigen Ausbildung gelangt. Wir ersehen aber daraus, dafs die Sterigmen nur in bestimmter Weise ausgebildete Seitenäste sind. Der Pinselschimmel bildet auch besondere Fruchtkörper, in denen Schläuche mit Sporen angelegt werden; diese Fruchtform ist jedoch zu selten, als dafs sie für uns ein besonderes Interesse hätte. Verfasser beobachtete ihre Bildung auf einer Würzegelatine, die in einem gut zugedeckten Petrischälchen sich mit dem Pilz überzogen hatte.

Mit dem Pinselschimmel sehr leicht zu verwechseln sind die von Wehmer als Erreger einer Citronensäuregärung entdeckten

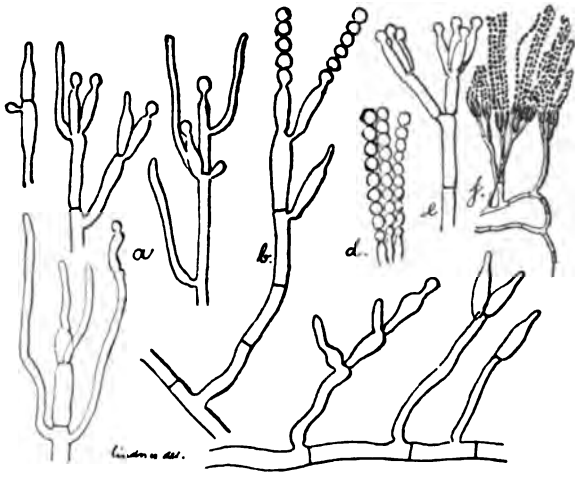


Abb. 141. Penicillium glaucum aus einer Tröpfchenkultur in gehopfter Bierwürze.
a Mehrere unvollkommen ausgebildete Konidienträger. b ein solcher mit nur drei Sterigmen. Die beiden oberen tragen bereits Sporenketten. c (rechts unten) Sterigmen ohne fertige Sporen. d Sporenketten. e etwas regelmäfsig gestalteter Konidienträger. f Konidienträger mit langen Sporenketten, schwach vergröfsert.

Citromyces Pfefferianus und glaber. Beide geben ebenfalls hellgrüne bis tiefblaue Sporenrasen. Im allgemeinen zeigen sie jedoch ein kompakteres Aussehen, und ihre Oberfläche sticht von der mehr lockeren der Penicilliumdecken immerhin ab. Manchmal fruktifiziert der Pilz gar nicht und zeigt nur weifse Decken, dann wieder ist die Konidienbildung nur eine sehr spärliche. Die Konidien sind sehr gleich in der Gröfse und werden von Sterigmen abgeschnürt, die pinselartig auf dem kolbig angeschwollenen Konidienträger sitzen. Im Gegensatz zu den Aspergillusarten bilden sich die Sterigmen nicht gleichzeitig, sondern nacheinander. Anderweitige Fortpflanzungsorgane fand Wehmer in kleinen hefeähnlichen Zellen, die sporenähnliche Bildungen zeigten. Ein Zurückführen in die Pilzform gelang nicht. Es bleibt abzuwarten, ob hier nicht vielleicht eine Verunreinigung mit Hefen vorgelegen hat.

Verfasser hat auf Preiselbeeren, die er in sterilen Gläschen auf dem kleinen Schneeberge im Riesengebirge eingesammelt hat, auf einigen derselben kleine schwarze Kügelchen entstehen sehen, die unter dem Mikroskop ähnlich wie manche Erysipheen-Perithecien radial gestellte, starkwandige dunkelgefärbte Stacheln aufwiesen. Diese trugen an der Spitze Sterigmen mit Sporenketten, ähnlich wie bei Penicillium. Beim Aussäen einer solchen Konidie in der Tröpfchenkultur entstand ein Mycel, das zuletzt ebenfalls einen derbwandigen dunkelfarbigen Konidienträger mit Sporen aufwies. Hiervon wurden wiederholt Übertragungen in

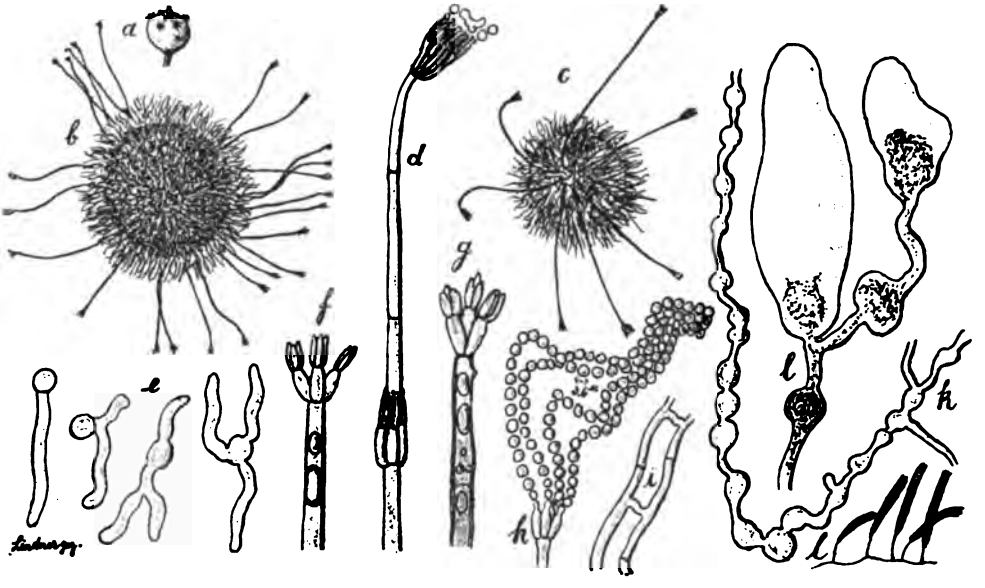


Abb. 142. Penicillium radiatum.

a Preiselbeere mit den kleinen schwarzen Sklerotien. b Sklerotium, stärker vergrößert, mit den ausstrahlenden starkwandigen Konidienträgern; von oben gesehen. c Ein zweites von der Unterseite. d einzelner Konidienträger. e keimende Sporen. f, g Sterigmen. h citromycesartiger Konidienträger mit Sporenketten. i Kopulationen zwischen zwei benachbarten Mycelfäden. k torulöse Anschwellung eines Fadens. l blasenförmige Anschwellungen. l Konidienträger mit verklebten Sporenketten. — a Natürl. Größe; e bis k 600fach vergr.

andere sterile Flüssigkeiten gemacht, aber niemals mehr hat sich die Erscheinung derbwandiger Konidienträger wieder gezeigt. An Stelle dessen traten immer nur citromycesartige Konidienträger auf, welche einen grünen Sporenrasen bildeten. Die schwarzen Kügelchen erwiesen sich als harte Sklerotien, in deren Innern keine ascogenen Schläuche zu entdecken waren. Da der Pilz wegen zu spät erfolgter Überimpfung mir verloren gegangen und er auf Preiselbeeren anderer Herkunft bisher nicht wieder nachweisbar war, konnte auch nicht festgestellt werden, ob er Citronensäure bildet. Jedenfalls wird er die Citronensäure in der Preiselbeere auch als Nahrung gebrauchen können.

Hier möge noch angeführt werden, in welcher Weise Wehmer die Gattung Citromyces den verwandten Gattungen gegenüberstellt.

Aspergilleen:

I. Konidienträger unverzweigt, einfache, meist querwandfreie, mehr oder weniger kolbig bis kugelig angeschwollene, derbere oder zartere Fäden darstellend.
   a) Sterigmen einfach:
      α) hervorstehend wirtelig-büschlig angeordnet, in beschränkter Anzahl und nacheinander entstehend — Citromyces;
      β) meist radial ausstrahlend, in grofser Zahl den gesamten Kopf (seltener nur den Scheitel) bedeckend und soweit bekannt, gleichzeitig entstehend:
         1. Früchte kugelige Perithecien mit Ascosporen — Eurotium,
         2. Früchte knollige Sklerotien oder überhaupt noch nicht gefunden — Aspergillus.
   b) Sterigmen verzweigt — Sterigmatocystis.

II. Konidienträger mehr oder weniger wirtelig oder baumförmig verzweigt, zarte, septirte, einfach endigende Fäden — Penicillium.

Schokoladenfarbener Schimmelpilz.

Eingeschaltet möge hier ein Schimmelpilz werden, der auch Sporenketten reichlich erzeugt, ohne besonders gestaltete Sterigmen zu besitzen. Der „schokoladenfarbene Pilz", wie er vorläufig genannt werden mag, wächst auf Würze in Form etwa Schrotkorn grofser Polster, die von dem Sporenstaub bedeckt sind. Auf Würzegelatine bildet er ein förmliches Ringgebirge. Gelatine wird durch ihn nicht verflüssigt. Die Sporen erzeugenden Fäden sind aufserordentlich dicht aneinander gelagert und ist die Abgliederung der Sporen verhältnismäfsig schwer zu studieren. Ursprünglich kurz cylindrisch, runden sich die Sporen später ab und schwellen beim Keimen zu Kugeln von 2—3facher Gröfse an. Die Keimschläuche krümmen sich frühzeitig und bilden zahlreiche Querwände und Seitenäste. (Siehe Abb. 143.) Er bildet ein ausgezeichnetes Material zur Beobachtung in der Tröpfchenkultur, da er sogleich fruktifiziert und die Sporenketten zumeist an dem Deckglas selbst anliegen, wodurch ihre Bildungsweise gut verfolgt werden kann.

Aspergillus-Arten (Kolbenschimmel).

Hier verzweigt sich der Konidienträger nicht wie bei dem Pinselschimmel, sondern er schwillt an der Spitze kolbenförmig an (daher „Kolbenschimmel"). Die Sporen werden ebenfalls kettenförmig am Ende flaschenförmiger Organe, sog. Sterigmen, erzeugt, die wie die Wasserstrahlen aus der Brause einer Gieſskanne aus dem Kolben hervorgehen (aspergere, besprengen). Wie bei Penicillium kommen auch hier grofse Unregelmäfsigkeiten in der Ausbildung der Fruchtorgane vor; es können z. B. Sterigmen am Ende des Fadens entspringen, ohne dafs eine kolbige Anschwellung vorhanden ist. Die Gröfse der letzteren schwankt in weiten

Grenzen; mehr konstant ist schon die Gröfse der Sporen. Ein häufiger vorkommender, grünlich gefärbter Aspergillus bildet nach ungefähr achttägiger Kultur auf Gelatine die sonst seltene Erscheinung von Perithecien mit Ascis- und Ascosporen[1]). Das Perithecium ist wie die

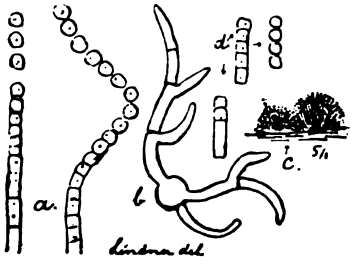


Abb. 143.
Schokoladenfarbener Schimmelpilz.
a Sporenketten erzeugende Fäden. b ausgekeimte Spore. c schwimmendes Polster. d Bilder aus der Sporenmasse. 600fach.

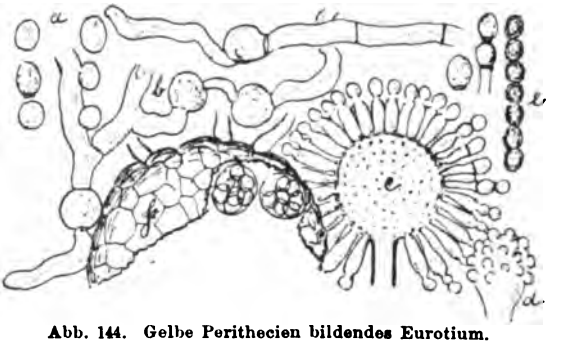


Abb. 144. Gelbe Perithecien bildendes Eurotium.
a Sporen, zum Teil glatt, zum Teil mit kleinen Warzen bedeckt. b Keimschläuche, untereinander kopulierend. c Kolben mit Sterigmen. d Kolben mit jungen Sterigmen. e Sporenkette. f Perithecium mit kugelförmigen, je acht Ascosporen führenden Ascis. 600fach.

Lupulinkörner grünlichgelb bis reingelb gefärbt und zeigt bei oberflächlicher mikroskopischer Betrachtung auch sonst mit diesem grofse Ähnlichkeit. Bei den übrigen Arten sind Perithecien äufserst schwer zu erhalten, und trifft man solche auf Malz u. s. w. kaum jemals an. Ein-

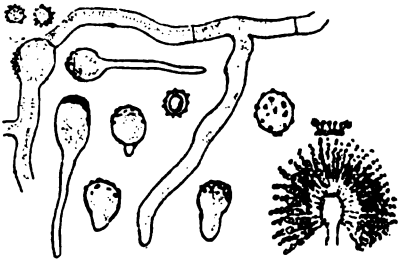


Abb. 145. Schwarzbraune Sterigmatocystisart (Nr. 305 der Sammlung).
Links einzelne Sporen, ungekeimt u. in Keimung begriffen (600fach); rechts Durchschnitt durch ein sporentragendes Köpfchen; darüber in ungefährer natürl. Gröfse ein kleiner Pilzrasen.

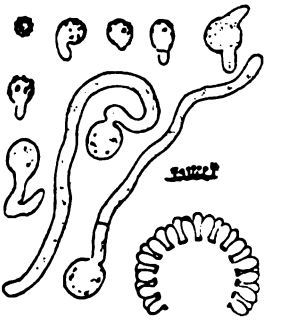


Abb. 146. Schwarzbraune Sterigmatocystisart (Nr. 306 der Sammlung).
Links Sporen trocken, angeschwollen und auskeimend; rechts Durchschnitt durch ein Kölbchen mit beginnender Sterigmenbildung. 600fach.

zelne Aspergillus-Arten sind für das Geflügel gefährlich, indem die eingeatmeten Sporen in der Lunge auskeimen und da alle Poren verstopfen. Man mufs sich daher vorsehen, schimmeliges Getreide oder Malz zum Geflügelfutter zu verwenden. Auch als Parasiten des menschlichen

[1]) Aspergillus-Arten mit Perithecien bezeichnet man auch als Eurotium.

Ohres sind Aspergillus-Arten bekannt (A. nigricans, flavus und fumigatus). Das Mycelium bildet im äufseren Gehörgang und auf dem Trommelfell eine Art Haut, welche Schwerhörigkeit im Gefolge hat. In zoologischen Gärten tritt die Pneumonomycosis aspergillina bei Hühnern, Enten, Tauben, Papageien, Schwänen, Fasanen, Flamingos u. s. w. häufig geradezu epidemisch auf. Wurden gesunde Tauben, Gänse und kleine Vögel nur einige Minuten lang einer Luft ausgesetzt, in welcher Sporen des Aspergillus fumigatus verstäubt waren, so gingen die Tiere bis zum fünften Tage an Pneumonie zu Grunde. Auch für Menschen ist der Aspergillus fumigatus gefährlich; Lunge, Ohr und Auge können von ihm befallen

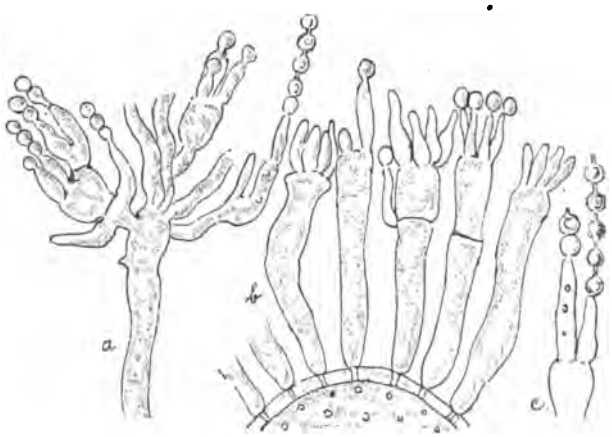


Abb. 147. Schwarzbraune Sterigmatocystisart (Nr. 306 der Sammlung).
a Unregelmäfsig ausgebildete Sterigmen auf einem gewöhnlichen Faden aufsitzend. b Sterigmen auf der kugeligen Anschwellung sitzend. c Bildung der Sporenketten an zwei einfachen Sterigmen. 600fach.

werden. Bei Taubenzüchtern[1]) sind öfter derartige Krankheitsfälle beobachtet worden.

Bei der Herstellung des japanischen Reisbieres spielt der Aspergillus Oryzae als Verzuckerungspilz eine grofse Rolle. Die Reiskörner werden mit den Sporen des Pilzes vermischt, und die jungen weifsen Mycelien, welche die Körner umspinnen, scheiden diastatische Fermente aus, durch welche dann die Stärke verzuckert wird. Die Sporenmasse des betreffenden Schimmels ist gelbgrünlich gefärbt. Kaffeebraune bis chokoladenfarbene Sporenrasen bildet ein anderer ihm nah verwandter Pilz, der Aspergillus Wentii (Wehmer), der zur Sojadarstellung benützt wird. Die bis 40% Eiweifs enthaltende Soja-Bohne wird nach dem Kochen mit dem Pilz besäet, nach eingetretener Fruktifikation des letzteren einige Tage mit Salzlösung stehen gelassen

[1]) Da in Brauereien gewöhnlich Tauben gehalten werden, ist hierauf besonders zu achten.

und dann mit dieser in verschiedenen Kräutern aufgekocht, bis ein Salzhäutchen sich bildet. — Diese Brühe ist sehr schmackhaft und in der Küche Javas geradezu unentbehrlich; „Tao-Yu" ist ihr Name. Auch der „Tao-tijung" (Bohnenbrei) wird durch diesen Aspergillus leicht verdaulich gemacht. Der Pilz besitzt ein sehr starkes Peptonisierungsvermögen, desgleichen die bemerkenswerte Eigenschaft, daſs er durch teilweise Lösung der Zellwände der Bohne diese für die weitere Aufschlieſsung vorzüglich vorbereitet.

Im Vereinslaboratorium wurden 2 schwarzbraune Aspergillus-Arten

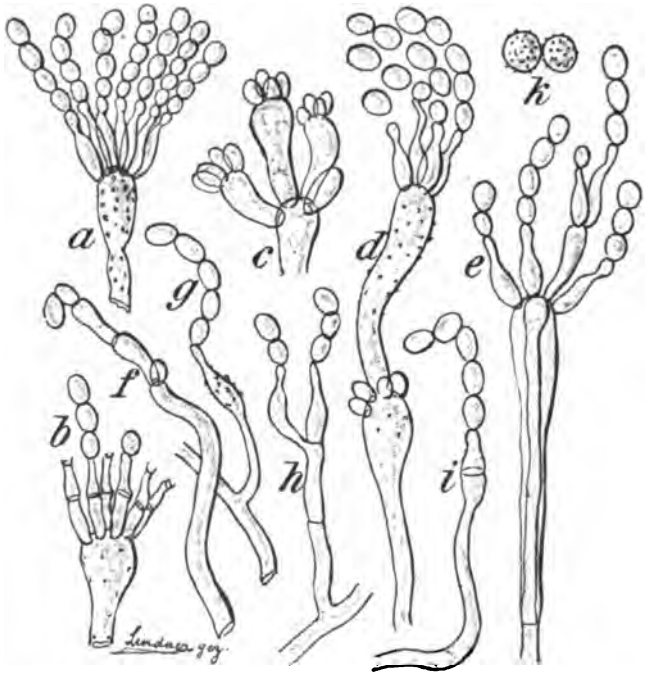


Abb. 148. Aspergillus Oryzae. Bilder aus einer Adhäsionskultur (in Würze). 600fach vergr. a Häufigste Form der Fruktifikation, reiner Aspergillustypus. b die Sterigmen zeigen Querwände. c sterigmatocystisähnliche Gliederung. d ein besonders kräftig entwickeltes Sterigma bildet vier neue, welche Sporenketten abgliedern. e Durchwachsung eines Konidienträgers. f, g, h und i einfachste Form der Konidienträger. k Sporen vor der Keimung.

(Sterigmatocystis) gezüchtet, die trotz groſser sonstiger Übereinstimmung doch konstante Unterschiede im Wachstum auf Würzegelatine ergaben. Beide bilden zuerst eine schneeweiſse Wolle, die später einen moosgrünen Anflug erhält. Die Grünfärbung tritt bei der einen Art (305) schneller und stärker auf als bei der andern (306). Dann folgt die Bildung zahlreicher dunkler, sandkorngroſser Pünktchen. Die Sporenmassen nehmen allmählich eine schwarzbraune Färbung an. Gemeinsam ist beiden die Ausscheidung einer bedeutenden Menge krystallinischen Sediments in der verflüssigten Würzegelatine. Die einen Krystalle sind

Quadratoktaëder (jedenfalls oxalsaurer Kalk), die andern scheinen rhombisch zu sein. Auch der japanische schwachgrünliche Pilz giebt diese Sedimente.

A. flavus, albus, Ostianus, Wentii, glaucus, Oryzae, minimus und fumigatus haben unverzweigte, A. nidulans, niger, sulfureus, ochraceus, Rehmii haben verzweigte Sterigmen (daher auch als Sterigmatocystis bezeichnet).

Eine in den letzten Jahren verhältnismäfsig häufig auf Malz beobachtete grüne Aspergillus-Art, A. clavatus, besitzt langgestreckte, keulenförmige Anschwellungen, welche dicht mit einfachen Sterigmen besetzt sind, so dafs das Ganze aussieht wie ein Kanonenwischer. Die Sporen sind sehr klein und glatt. Der Pilz bildet auf Malz üppige Rasen.

Auf verdorbener Gerste (durch die Kornmotte) entwickelt sich fast regelmäfsig und fast ausschliefslich Aspergillus albus.

Auf Stärkezucker wurde von Saare das Vorkommen eines schwarzen Aspergillus beobachtet, der mutmafslich die Ursache des intensiven Rettichgeruches war, der sich in der Flasche bemerkbar gemacht hatte.

Král-Prag führt in seinem Bestand folgende Reinkulturen von Aspergillus-Arten: A. candidus, flavus, fumigatus, glaucus, minimus, nidulans, niger, novus, Oryzae, Ostianus, varians und Wentii, aufserdem noch Eurotium malignum.

Mucor-Arten (Köpfchenschimmel).

Wir gehen nun zu einer Gruppe von Pilzen über, welche ihre Sporen in geschlossenen Behältern, in sogenannten Sporangien erzeugen. Auf dem Malz und auf Pferdedünger finden wir mit fast absoluter Sicherheit immer einzelne Angehörige dieser Gruppe vor, ebenso bei der Obstfäule. In Würze entwickeln sie sich alle, die einen kräftiger, die andern schwächer; einige von ihnen vermögen sogar eine alkoholische Gärung einzuleiten. Im kleinen Würzetröpfchen können wir bequem die Entwicklung von der Spore bis zum Sporangium verfolgen. Das Mycel ist in der Jugend fast ohne Querwände; in den untergetaucht wachsenden Fäden tritt gewöhnlich eine reichliche Gemmenbildung auf (Mucorgemmen, Mucorhefe). Technisch sind diese Pilze erst in den letzten Jahren verwendet worden. Die systematische Bestimmung der einzelnen Arten bietet oft grofse Schwierigkeiten, da die Sporangien und die Sporen in der Gröfse und dem Aussehen sehr wechseln können. Die am häufigsten auf Malz vorkommende Art ist wohl

Mucor stolonifer (Rhizopus nigricans);

er bildet ein aufserordentlich kräftiges Luftmycel, das zuerst weifs, später grau wird und zahlreiche schwarze Sporangien entwickelt. Die Sporen

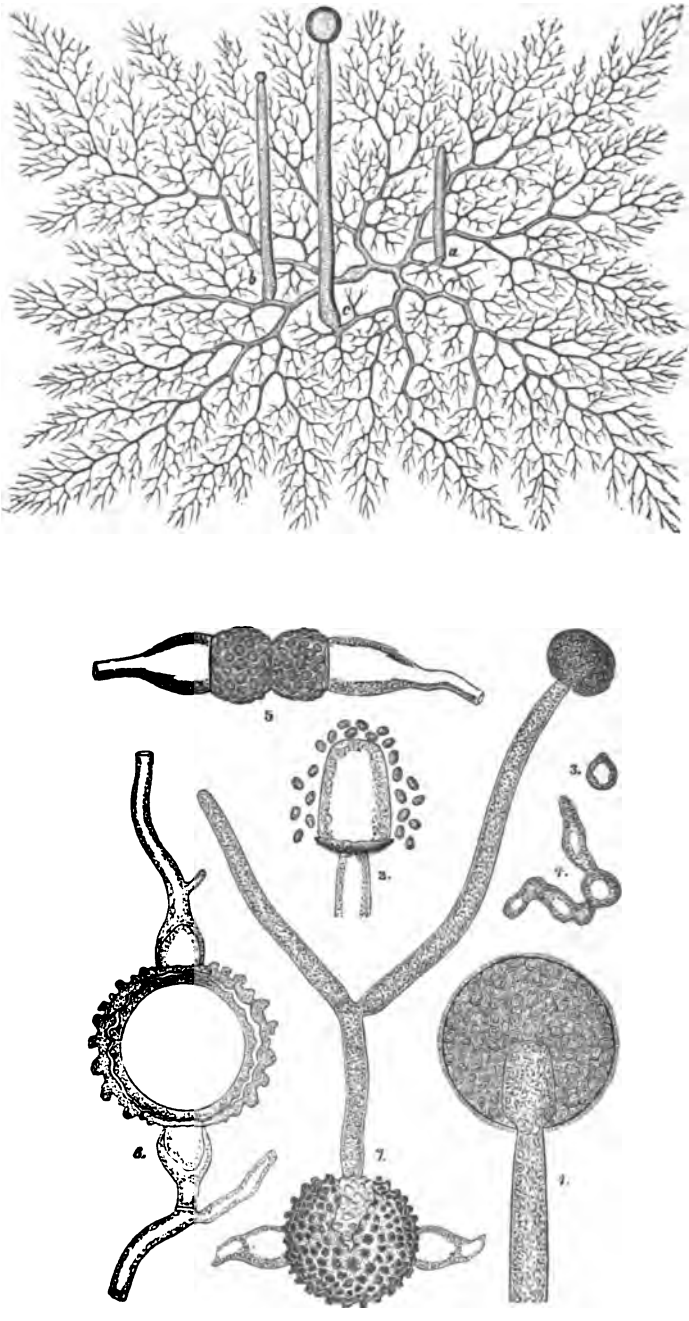


Abb. 149. Mucor Mucedo nach Brefeld und Kny.
A Baumartig verzweigtes Mycelium mit einzelnen dickeren, aufrecht stehenden Ästen (a, b, c). 1 Sporangium. 2 Columella und Sporen. 3, 4 keimende Sporen. 5, 6 Entwicklung der Zygospore. 7 keimende Zygospore mit Sporangium.

sind etwas bräunlich gefärbt und besitzen eine fein geriefelte Aufsenschicht, welche beim Keimen der Spore platzt und derselben dann in Form einer kleinen Kappe aufsitzt. (Siehe Abb. 150 l_1—l_3.)

Dieser Schimmel vermehrt sich aufser durch Sporen noch wie die Erdbeerpflanze durch Absenker (Stolonen).

Nach Behrens lebt dieser Pilz auf Birnen und Tomaten parasitisch und scheidet ein Gift aus, welches die Plasmolyse der Fruchtfleischzellen hervorruft. Selbst abgekocht wirkt sein Saft noch in derselben Weise auf das Plasma. Das Mycel vermag die aus Pektinstoffen bestehende Mittellamelle zwischen den Fruchtfleischzellen zu lösen; auch scheidet er Invertin aus, sowie stärke- und eiweifslösende Enzyme.

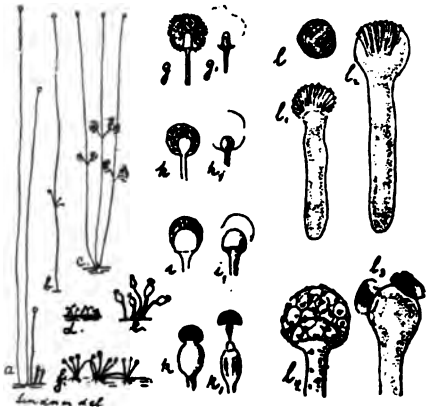


Abb. 150. Verschiedene Mucor-Arten.
Die Figuren a bis f sind beinah in natürlicher Gröfse gezeichnet. a stellt den Mucor Mucedo, b und c Thamnidium-Arten dar, deren charakteristisches Merkmal das Hervorsprossen kleiner „Sporangiolen" auf einfachen oder regelmäfsig verzweigten Seitenästen bildet. d Mucor racemosus oder Chlamydomucor racemosus, so benannt wegen der verzweigten Sporangienträger und wegen der reichlichen Bildung von Gemmen oder Chlamydosporen in untergetaucht wachsenden Mycelien. e Pilobolus cristallinus (Bombenwerfer), bildet wie Glasperlen aussehende Anschwellungen unterhalb des schwarz gefärbten Sporangiums. f Mucor stolonifer. g bis k stellen mehr schematisch den Bau der Sporangien dar. g Sporangium von Mucor Mucedo; cylindrische Columella und mit Krystallnadeln von oxalsaurem Kalk stachelig besetzte Sporangiumhaut. g_1 nach der Sporenentleerung die Columella noch von einem Ringkragen, das Überbleibsel der Sporangiumhaut, die leicht zergeht, umgeben. h Mucor racemosus, kugelige bis birnenförmige Columella, Sporangiumhaut mehr fest und derb, im Wasser nicht zerfliefsend. i Mucor stolonifer, Columella halbkugelig. k Pilobolus cristallinus. k_1 derselbe im Augenblick, wo das Sporangium emporgeschleudert wird, dargestellt. Das Plasma des Stieles spritzt heraus aus der Columella. l bis l_3 Sporen von Mucor stolonifer (600fach) in Keimung. l_4 verkümmertes Sporangium aus einer Tröpfchenkultur.

Die Bildung der Sporangien geht so vor sich, dafs das Ende einer Lufthyphe kugelig anschwillt und sich durch eine Querwand vom Stiel abgrenzt. Das in dem Köpfchen vorhandene Plasma teilt sich in Sporen auf, die kugelig bis eiförmig sind. Der Raum für die Sporen wird dadurch eingeengt, dafs die Querwand sich in das Köpfchen einstülpt und einen cylindrischen oder blasenförmigen Körper, die sogenannte Columella (Säulchen), bildet. Die Sporangiumhaut erscheint oft schwarz infolge reichlicher Ansammlung von kurzen, nadelförmigen Krystallen (oxalsaurer Kalk). Bei einzelnen Arten sind die Sporen in eine sehr quellbare Substanz eingebettet, die nach Wasseraufnahme ihr Volumen sehr vergröfsert und schliefslich sich ganz zerteilt, wobei die Sporen frei gemacht werden. Bei den Pilobolusarten wird durch die plötzliche Quellung der unter dem Sporangium gelegenen Membran das letztere mit Vehemenz emporgeschleudert. Dafs die Mucor-

Arten noch durch geschlechtlich erzeugte Sporen, die sogenannten Zygosporen, sich fortpflanzen können, sei hier nur angedeutet. Ihr Vorkommen ist aber so selten, daſs wir ihnen auf Malz oder sonst im Betrieb kaum begegnen werden. Daſs einzelne Mucorarten, wie Chaetocladium und Piptocephalis, auf anderen Arten schmarotzen, ist schon früher erwähnt.

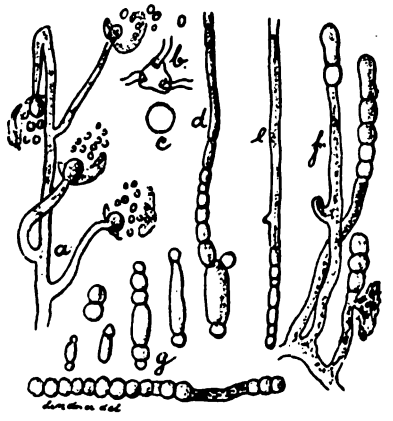


Abb. 151. Mucor (Chlamydomucor) racemosus. a Verzweigter Sporangiumträger mit bereits entleerten Sporangien. b Spore, welche nach ganz bedeutender Volumenvergröſserung drei Keimschläuche gebildet hat. Die übrigen Figuren stellen Gemmenbildungen dar. In f ist der Faden an einer Stelle gerissen und das Plasma durch die Öffnung ins Freie getreten. b bis f 100fach vergröſsert.

Zwei Mucorarten sind bisher als pathogen festgestellt worden: M. rhizopodiformis und M. corymbifer. Sie wachsen besonders gut bei Körpertemperatur; ihre Sporen, in die Blutbahn von Kaninchen eingeführt, bewirkten den Tod derselben innerhalb 48—72 Stunden. Die Sporen waren in den Nieren und anderen Organen mycelartig ausgewachsen.

Mucor stolonifer, obwohl auch bei Körpertemperatur gut wachsend, wächst doch im Blut nicht aus, bleibt völlig unschädlich.

Die Amylomyces-Arten.

Sitnikoff und Rommel haben in der „Zeitschrift für Spiritusindustrie“ 1900 eine vergleichende Studie über diese Gruppe veröffentlicht und dabei 3 verschiedene Arten festgestellt:

1) Mucor Rouxii (von Calmette beschrieben) auch als α-Amylomyces bezeichnet,
2) β-Amylomyces (aus Japan stammend),
3) γ-Amylomyces (von Colette und Boidin aus Tonkinreis isoliert).

In Würze kultiviert, giebt α glänzende glatte Decken ohne deutlich erkennbare Sporangienbildung. β und γ sind schwer zu unterscheiden, geben beide einen kräftigen Wald von Sporangiumträgern mit dunkelgefärbten Sporangien. Die Sporen von β sind durchschnittlich gröſser als von γ.

In der Tröpfchenkultur zeigen sie reichliche Gemmenbildung, auch an den Fäden, die über den Tropfen hinausgewachsen sind.

In Maische gezüchtet, bilden sie Mycelflocken, die ausgebreitet ungefähr 1 cm lang sind und die Form eines falschen Schnurrbartes haben.

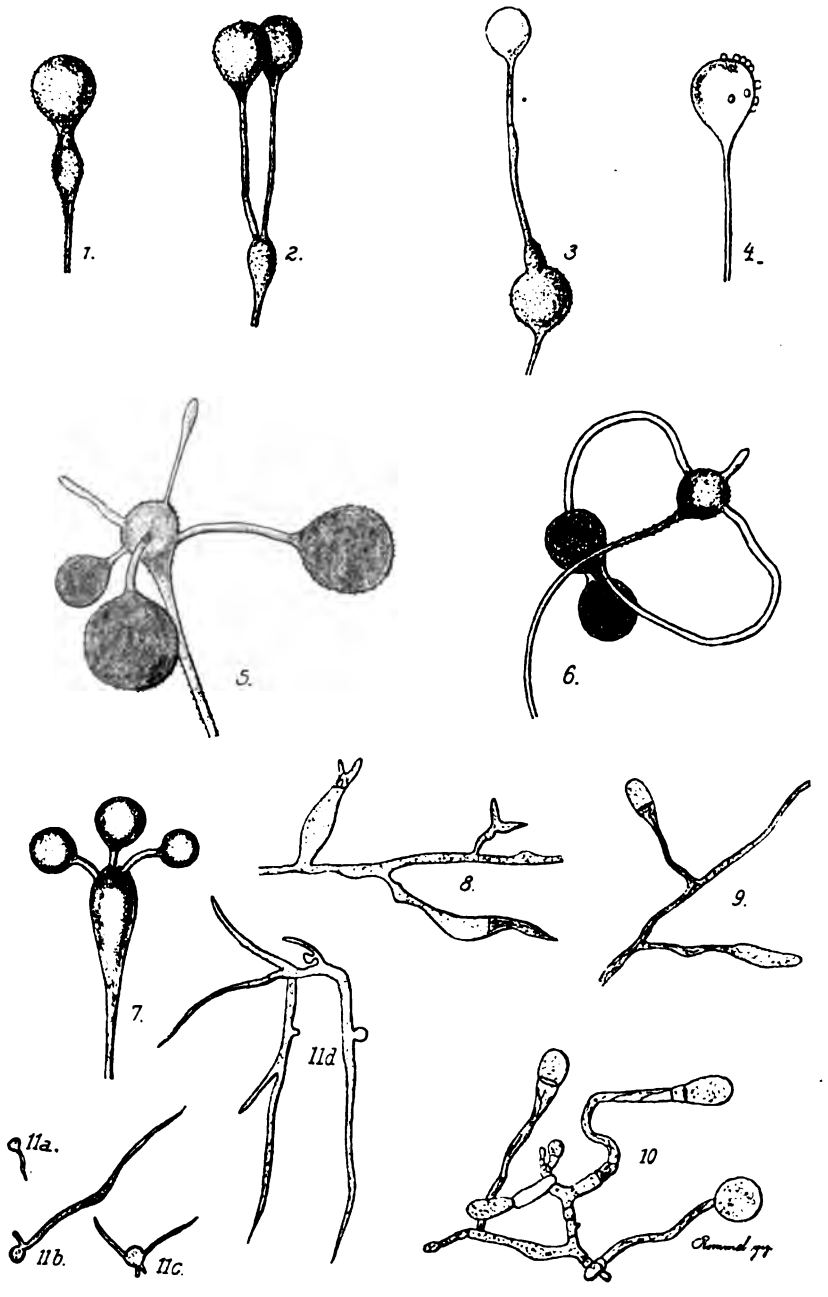


Abb. 152. Verschiedene Wuchsformen von Amylomyces-Arten.

1—5 Sporangienbildungen bei β-Amylomyces. 6 u. 7 Ebensolche von γ-Amylomyces. 8—10 Gemmenbildungen bei β-Amylomyces in Würzetröpfchen. 11a—11d Sporenkeimung bei γ-Amylomyces. Vergrößerung 120fach.

Die Mycelfäden darin sind fast ohne Querwände. Die Sporangienfruktifikation erhält man am besten auf Würzegelatine, namentlich dann, wenn man den Kolben umkehrt, so dafs die Sporangienträger nach abwärts wachsen können. Für Maisbrennereien sind diese Pilze schon

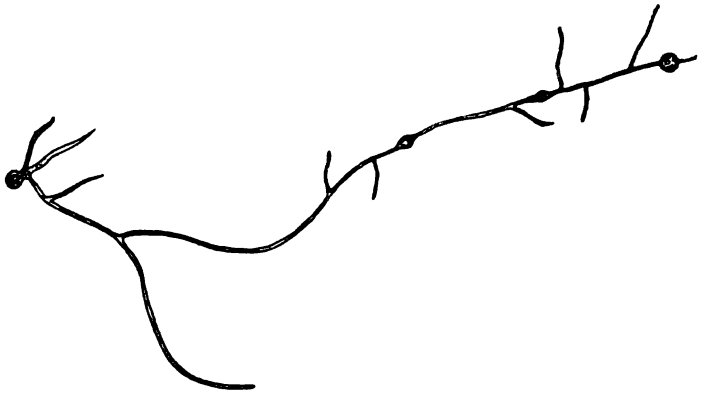


Abb. 153. Gemmenbildung bei β-Amylomyces aufserhalb des Würzetröpfchens. Vergröfserung 120fach.

vielfach in Gebrauch; für Kartoffelbrennereien ist ihre Brauchbarkeit noch genauer festzustellen. α und γ können Inulin, Rohrzucker und Raffinose nicht vergären, dagegen β; letzterer vermag aber im Gegensatz zu α und γ keine Trehalose zu vergären. (Siehe Seite 196.)

Hefenkunde.

Während die Schimmelpilze im ganzen eine mehr nebensächliche Rolle in den Gärungsbetrieben spielen, umfafst die nunmehr folgende Gruppe der Hefenpilze die specifischen Gärungserreger. Nicht alles aber, was wir als Hefenorganismus ansprechen müssen, ist fähig zur Gärung; es giebt viele Arten, welche den Zucker in Alkohol und Kohlensäure nicht zu spalten vermögen, sondern ihn höchstens assimilieren, um davon ihre Zellhaut oder das Plasma aufzubauen. Wenn wir diese dennoch zu den Zuckerpilzen oder Saccharomyceten zählen, so geschieht dies wegen der Übereinstimmung in dem Bau und in der Entwicklung mit den typischen Vertretern dieser Gruppe, den Brauerei-, Brennerei- und Weinhefen.

Im Verhältnis zu den übrigen Pilzen stehen die Hefen auf einer sehr niedrigen Organisationsstufe; sie sind zumeist einzellig, nur selten kommt es vor, dafs sie auch Querwände bilden oder nach Art der meisten Schimmelpilze zu langen Fäden auswachsen.

Eine den Anforderungen einer strengen Systematik entsprechende Einteilung giebt es vorläufig noch nicht — dazu sind unsere Kenntnisse von den verwandtschaftlichen Beziehungen der einzelnen Arten untereinander und zu den anderen Pilzgruppen noch zu mangelhafte.

Brefeld nimmt an, dafs die Hefen abgelöste Entwicklungsglieder von höheren Schimmelpilzen darstellen, welch letztere wir aber in unseren Kulturflüssigkeiten nicht aus der Hefe wieder heranzuzüchten verstehen. Es ist ihm bei zahlreichen höheren Schimmelpilzen gelungen, in den Flüssigkeiten Hefengenerationen zu erzielen, die mikroskopisch unseren Hefen sehr ähnlich sind. Sadebeck ist es in jüngster Zeit geglückt, aus Pilzen der Exoascusgruppe Hefengenerationen zu erzielen, welche alkoholische Gärung erzeugten. Die Hefen mit hutförmigen Sporen, die eigentlich in einer besonderen Gattung untergebracht werden müfsten, weisen auf eine Abstammung von Endomyces-Arten hin.

Hansen meint, es liege vorläufig kein Grund vor, die Hefen als selbständige Gruppe zu streichen.

Wir wollen hier mehr praktische Gesichtspunkte bei der Aufstellung der Gruppen mafsgebend sein lassen und unterscheiden zunächst zwischen den Kulturhefen und den wilden Hefen. Als Kulturhefen fassen wir die in den Brauereien und Brennereien, sowie Preſshefefabriken vorherrschenden Arten auf, denen die Hauptarbeit bei der Gärung der Würzen und Maischen zufällt. Als wilde Hefen wollen wir alle die Kulturhefe begleitenden Formen ansehen, gleichgültig ob sie nützlich oder schädlich sind, ob sie sich an der Zersetzung der Zuckerarten beteiligen oder nicht. Die Kluft zwischen den Gruppen der Kulturhefen und wilden Hefen ist übrigens durch Übergangsformen überbrückt.

Zellformen.

Eine Folge des einförmigen Baues der Hefezellen ist, dafs das Mikroskop allein uns nicht immer bestimmten Aufschlufs über die Zugehörigkeit der einen oder anderen Zelle zu dieser oder jener Art geben kann. Bei jeder Art kann die Zellform in weiten Grenzen variieren, sie kann kugelige, elliptische, wurstförmige und fädige Elemente hervorbringen.

Obwohl uns später eine gröfsere Anzahl Abbildungen Gelegenheit geben wird, die Formverhältnisse der Hefezellen kennen zu lernen, wird es doch zweckmäfsig sein, von vornherein die wichtigsten Zellformen zusammenzustellen.

Wenn auch bei jeder Hefe die Zellform variieren kann, so kommen doch gewisse Formen bei der einen Art häufig, bei der anderen weniger häufig oder nur ganz ausnahmsweise vor. Für gewisse Zellformen haben

sich bestimmte Bezeichnungen eingebürgert. So spricht man von pastorianer und von elliptischer Hefe, von Torula- und Exiguus-Hefe, von mykodermaartigen, von amöboiden, von oidiumartigen und mycelialen Formen. Für die Kulturhefe ist wohl die eiförmige Zelle als typisch anzusehen (a), für Weinhefen die elliptische (b), die Nachgärungshefen haben zumeist elliptische und pastoriane Formen (b und c, c) die Kahmhefen zeigen die Wegweiserform (d) häufig. Die Torula-Arten zeigen vorwiegend kugelrunde Zellen (e und f); bei f ist noch

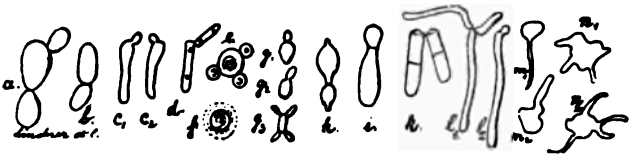


Abb. 154. Zusammenstellung der wichtigsten Hefezellformen.

ein schleimiger Hof angedeutet. Die Exiguus-Arten besitzen fast nur sehr kleine Zellen (g_1—$_3$). Die citronenförmigen Zellen h sind für den Saccharomyces apiculatus typisch, die flaschen- oder kegelförmigen i für den Saccharomyces Ludwigii, die oidiumartigen k für den Schizosaccharomyces Pombe und octosporus; die mycelialen Formen l_1 und l_2 für gewisse Arten, die eine Mittelstellung zwischen Kahm- und Schimmelpilzen einnehmen; die amöboiden Zellen $m_{1, 2}$ und $n_{1, 2}$ treffen wir bei roten Hefen, sowie unter bestimmten Verhältnissen auch bei einigen Kulturhefen an.

Vermehrung durch Sprossung und Spaltung.

In Nährflüssigkeiten eingesäet, vermehren sich die Hefen meist nur durch Sprossung. Die Mutterzelle bildet an irgend welchen Stellen ihrer Oberfläche bruchsackartige Hervorstülpungen, die allmählich Form und Gröfse der Mutterzellen erreichen.

An der Verbindungsstelle bildet sich nun eine kleine Querwand aus, die bei der Trennung der Mutter- und Tochterzelle sich ebenfalls spaltet.

In vielen Fällen tritt unmittelbar nach der Trennung ein erneutes Aussprossen der Mutterzelle gerade an dieser Stelle ein; ist doch die Wandung hier am dünnsten und daher am meisten einem Druck von innen heraus nachgiebig. Andererseits kann aber auch jede andere Stelle der Mutterzellwand aussprossen. Die Vermehrung geschieht also bei der Hefe durch Sprossen und darauffolgende Spaltung.

Mitunter, bei schlauchförmigem Auswachsen der Hefezellen kann die Bildung einer Querwand überhaupt unterbleiben, oder es tritt die Querwand an irgend einer Stelle des Schlauches auf. (Abb. 156.) Auch diese können sich spalten und so einen Zerfall, eine Spaltung der Zelle, herbeiführen.

Verfasser besitzt die Photographie einer Hefe, die, im Würzetröpfchen gewachsen, über den Rand desselben dünne Mycelfäden mit Querwänden gebildet hatte, die sich zuletzt wieder gabelten und eine grofse Anzahl Sporen bildeten.

Typisch wird das Auftreten von Querwänden im Innern der Zellen bei Schizosaccharomyces Pombe und octosporus, sowie bei Saccharomyces Ludwigii. Da eine solche Querwand ebenfalls zunächst dünn ist, wird sie leicht nach aufsen hervorgewölbt werden. Das Wachstum wird aber, da die Fläche der Membran ja dem Querschnitt der Mutterzelle gleichkommt, nicht wie bei der gewöhnlichen Hefenzelle zur Kugelform, sondern mehr zur Form eines Schlauches führen.

Auch die für gewöhnlich in typischer Sprossung wachenden Bierhefezellen zeigen mitunter dicke, schlauchartige Auswüchse, resp. die ganze Zelle streckt sich zu einem langen Schlauch aus, bis 150 μ und darüber. Solches Wachstum wird besonders auf festem Nährboden oder in den Hautbildungen auf flüssigen Substraten häufiger beobachtet. Ganz absonderliche Gebilde treten uns manchmal in alten Hefekulturen auf Gelatine entgegen. Da findet man Zellen, bei denen man im ersten Augenblick an Amöben, die Pseudopodien ausgebildet haben, erinnert wird. Das Vorhandensein einer Zellwandung und der Mangel an Bewegungsfähigkeit belehrt uns allerdings sogleich, dafs es Amöben nicht sein können. Merkwürdig bleibt es immerhin, dafs unter Umständen das Plasma der Hefezellen gleichsam Amöbennatur annimmt und so eigentümliche Aussackungen der Zellwand hervorruft. (Siehe Abb. 157 und 158).

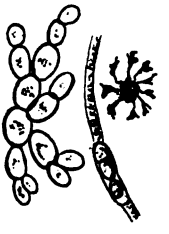


Abb. 155.
Figur rechts: Aus einer Tröpfchenkultur mycelartig ausstrahlende Hefe. In der Mitte: Mycelfaden mit Querwand u. Sporen. Links: Keimungsbild dieser Hefe. Vergröfserung 600fach.

Ein anderer Modus der Vermehrung beruht auf der

Sporenbildung.

Das Plasma der Zelle gruppiert sich zu mehreren kugeligen, halbkugeligen, sichel- oder nierenförmigen Gebilden, die sich mit einer Zellhaut umgeben und so selbständige Zellen darstellen.

Bei vielen Hefen hat man Sporen noch nicht nachgewiesen, andere sind nur aufserordentlich schwierig zur Sporulation zu bringen, noch andere bilden sie schnell und in grofser Menge. Hansen hat durch anhaltende Kultur bei höheren Temperaturen aus sporenbildenden Arten Varietäten gezogen, die die Sporenbildung später nicht mehr zeigten. Verfasser hat den Saccharomyces farinosus, der anfänglich massenhaft Sporen bildete, nach langjähriger Kultur auf Würzegelatine nicht mehr zur Sporulation bringen können. Sollte man ihm den Namen

Saccharomyces daraufhin wieder nehmen? Das ist doch wohl nicht angängig.

Es ist sehr wahrscheinlich, dafs eine grofse Zahl von gärenden, nicht sporenbildenden Hefen in ähnlicher Weise früher Sporenbildung besafsen. Sie können von anderen nicht sporenbildenden Hefen in der Verwandtschaft viel weiter abstehen, als von den Sporenbildnern. Die Einteilung der Hefen in Saccharomyceten und Nichtsaccharomyceten erscheint aus diesem Grunde nur als ein dürftiger Notbehelf.

Die Keimung der Sporen verschiedener Hefearten ist in neuerer Zeit von Hansen einer vergleichenden Untersuchung unterzogen worden,

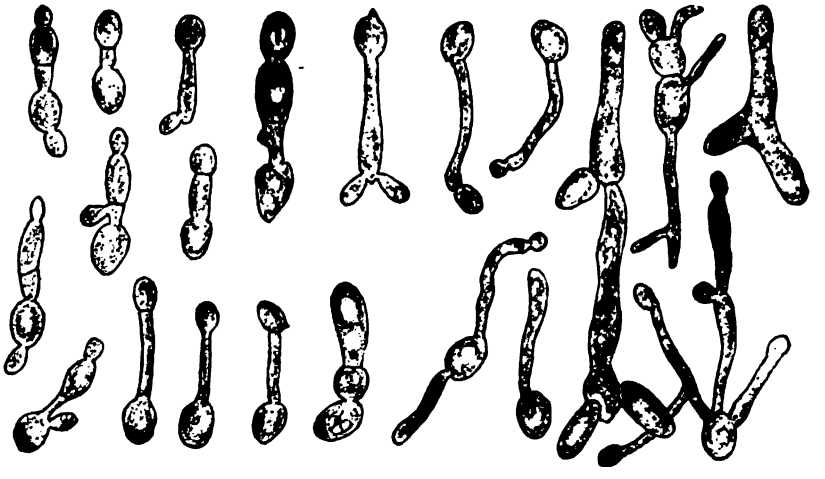


Abb. 156. Vergröfserung 600fach.

Zellen von untergärigen Brauereihefen, welche entweder durch das Auftreten von Querwänden oder durch absonderlich ausgebildete Keimschläuche eine Abweichung von der gewöhnlichen Sprossung zeigen. Die Figuren der linken Hälfte stammen zumeist aus frisch angestellten Bottichen.

und hat er gefunden, dafs die Sporen nach einer gewöhnlich vorangegangenen Anschwellung sogleich wieder zu sprossen anfangen. Nur Sacch. Ludwigii machte öfters eine Ausnahme: derselbe kann zuerst einen Keimschlauch bilden, an welchem dann eine Zelle abgeschnürt wird, die nun wieder zu sprossen anfängt.

Übersicht über die Sporenformen und die Art ihrer Keimung.

a in Abb. 158 ist das Sporenbild einer Prefshefe, b, d und e das einer Bierhefe; bei b_2 sehen wir die ersten Keimungsstadien. Die beiden Sporen brechen auseinander wie eine Semmel und sprossen sogleich an der Trennungsstelle aus. Die Mutterzellmembran ist abgeworfen. In c_2 (S. Bailii) ist letzteres nicht der Fall. Die Sporen haben die Mutterzellen vollkommen ausgefüllt und keimen nun durch letztere hindurch aus.

g stellt eine keimende Spore von Sacch. Ludwigii dar; die Mutterzelle, die noch 3 kleinere Sporen aufweist, ist geplatzt. h_1 und h_2 sind Zellen mit hutförmigen Sporen. h_3 eine hutförmige Spore keimend (nach Hansen), i keimende Sporen von Schizosacch. Pombe, k eine Zelle von

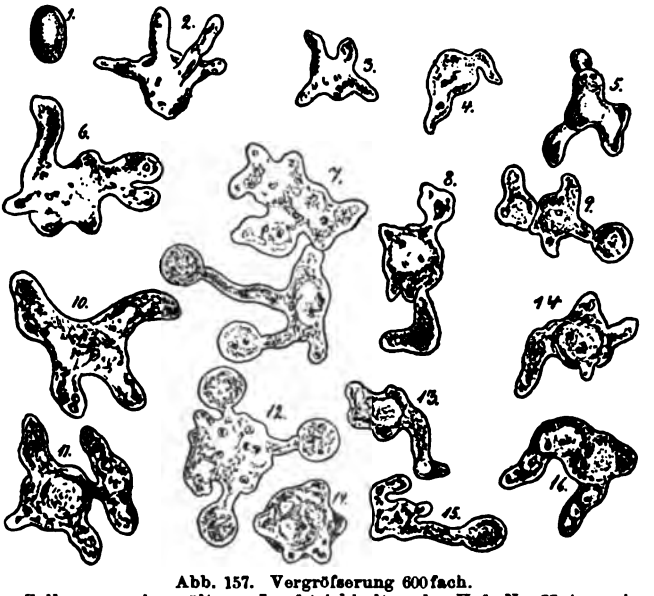


Abb. 157. Vergrößerung 600fach.
Amöbenförmige Zellen aus einer älteren Impfstrichkultur der Hefe Nr. 77 (aus einer Preßhefenfabrik in Bayern stammend).
Nr. 1 normale Zellform, die übrigen mehr oder weniger amöbenförmig. Das kräftige Plasma konzentriert sich an den vorderen Enden der Fortsätze. Die Zellen sind zumeist noch lebensfähig. So wurde die Entwicklung der Zelle in Fig. 12 zur Kolonie in Würzegelatine beobachtet.

Monospora cuspidata mit einer nadelförmigen Spore, k_2 eine solche aussprossend.

Monospora cuspidata gehört einer besonderen Gattung an und ist eine von Metschnikoff im Darm und in der Leibeshöhle von Daphniakrebsen gefundene Hefe. Die länglichen Zellen bilden je eine nadelförmige Spore aus, die bei der Darmbewegung die Darmwand und

Abb. 158. Sporenbildung und Keimung bei verschiedenen Hefen.

später auch die Leibeswand des Krebses durchbohrt. Die Spore keimt an irgend einer Stelle aus und vermehrt sich fortan durch Sprossung wie eine Hefe (siehe Seite 435 in Zopf „Die Pilze". 1890. Eduard Trewendt, Breslau). Bei S. octosporus besteht die Keimung der Sporen

lediglich in einer starken Anschwellung, worauf die Zelle durch eine Querwand sich teilt.

Bei dem Schizosacch. Pombe wächst die Spore zu einem Schlauch aus, der sich durch eine Querwand alsbald wieder teilt. Bei Schizos. octosporus teilt sich die angeschwollene Spore sogleich durch eine Querwand.

Zellkern.

In welcher Weise die Sporenbildung eingeleitet wird, und wie der Zellkern, dessen Existenz wiederholt behauptet und bezweifelt worden ist, dabei beteiligt ist, darüber wissen wir noch nicht viel. Thatsache ist, dafs man selbst bei den stärksten Vergröfserungen in sehr vielen Zellen nicht die geringste Andeutung eines solchen Gebildes zu sehen bekommt; andererseits: untersucht man Hefezellen, die kurz vor der

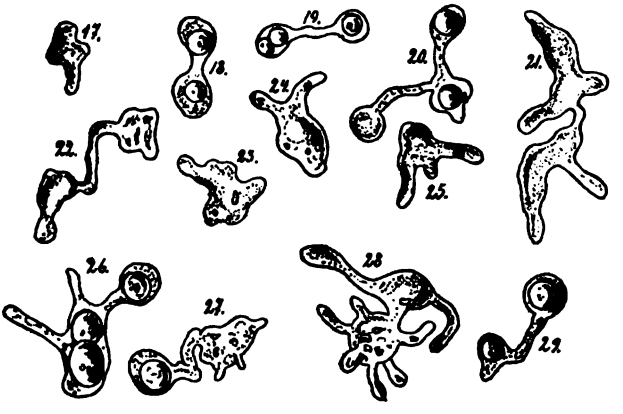


Abb. 159. Vergröfserung 600fach.
Amöbenförmige Zellen aus einer vier Monate alten, nicht verflüssigten Würzegelatinekultur des Saccharomyces Bailii (Hefe 76, aus Danziger Jopenbier isoliert). In mehreren Zellen, namentlich in den an Hanteln erinnernden, sind Sporen ausgebildet, so in Nr. 18, 19, 20, 26, 27, 29.

Sporenbildung stehen, dann sieht man manchmal im Innern der Zellen Figuren, die auf Kernteilungen schliefsen lassen.

Bei einer grofszelligen Torula mit stark verschleimter Zellwand konnte Verfasser auch ohne Färbung fast in jeder Zelle in der Mitte einen einem Zellkern ähnlichen Körper sehen, der nach allen Seiten Strahlen aussandte. Diese Erscheinung hat sich auch photographieren lassen.

Beijerinck hat bei dem Schizosaccharomyces octosporus dem Auftreten der 8 Sporen die Erscheinung von 8 Kernen voraufgehen sehen. Es ist darnach wohl zweifellos, dafs auch bei den übrigen sporenbildenden Hefen der Sporenbildung eine Zellkernteilung vorausgeht.

Hansen fand in Hautbildungen Zellen mit deutlich sichtbarem Kern. Auch durch Anwendung der verschiedensten Färbungsmethoden hat man die Existenz des Zellkerns nachzuweisen versucht. (Schmitz, Möller, Janfsen, Zacharias u. a.)

Janſsen hat folgende Methode der Zellkernfärbung am besten gefunden:

Man fixiert zunächst nach der Vorschrift von Möller die Hefenzellen mit einer jodgesättigten 1%igen Jodkaliumlösung, läfst auf entfettetem Deckgläschen in dünner Schicht eintrocknen und taucht letzteres sogleich in Wasser mit 1/3 Alkohol, dann in 80%igen, bis die Jodfarbe ausgezogen ist (nötigenfalls nachhelfen mit 1—3%igem Jodkalium oder Äther), endlich in 95%igen Alkohol; hier erhärtet das Plasma innerhalb 2 Tagen.

Nun kommt eine 4stündige Beize in 2,5%iger Eisenalaunlösung.

Dann färbt man in einer 0,5%igen Hämatoxylinlösung.

Zuletzt entfärbt man so weit, dafs der Kern schwarz und das Plasma farblos oder schwach violett erscheint.

Für die mikroskopische Betrachtung bringt man zwischen Deckgläschen und Objektträger eine 50%ige Glycerinlösung.

Janſsen und Leblanc haben auch Kernteilungsfiguren gesehen und auch abgebildet in ihren „Recherches cytologiques sur la cellule de levure“ in „La Cellule“ XIV 1. Bd. 1898, Louvain.

Merkwürdigerweise fehlt in den Abbildungen (siehe Abb. 160—165), die Hieronymus von der Hefenzelle giebt, jede Spur von einem Zellkern, der nach Janſsen in jeder ruhenden Zelle vorhanden sein soll. In dem Innern sehen wir nur Vakuolen, Plasma und die wie Perlenketten aussehenden sogenannten „Centralfäden“.

Hieronymus glaubt, dafs das Plasma aus einer Menge fädiger Elemente sich aufbaut, welche die kleineren oder gröfseren Körnchen, die wir in der Zelle wahrnehmen, umschliefsen. Die letzteren sind zumeist in einem mehr central gelegenen Faden eingebettet. Bei Färbungsversuchen mit Essigkarmin färben sich zunächst die protoplasmatischen Bestandteile des Centralfadens, dann erst die stark glänzenden Körnchen.

Wenn wir Kulturhefen längere Zeit in Tröpfchenkulturen beobachten, so treten uns solche Perlenketten aufserordentlich häufig entgegen. Hieronymus hält die Perlen für Reservestoffe. Zu sehen ist der protoplasmatische Teil des Centralfadens ohne Färbung nicht.

Lassen wir solche Tröpfchenkulturen eintrocknen, was innerhalb einiger Minuten sich vollzieht, und hauchen die Deckgläschen wieder an, so dafs etwas Feuchtigkeit von den eingetrockneten Strichen aufgenommen wird, dann sehen wir die Perlenschnüre nicht mehr; inmitten der Vakuole liegt aber ein grofser Tropfen, dessen Hauptbestandteil anscheinend fettiger Natur ist, und nach aufsen, zwischen Vakuole und Zellwand, sehen wir ein vollständig homogenes Plasma.

Das Auftreten von Fetttröpfchen im Plasma der Hefezellen ist besonders zahlreich, wenn das Wachstum der Kultur bei reichlich Luftzutritt beinahe zum Stillstand gekommen ist. Durch Zugabe von Osmiumsäure erhalten die Fetttröpfchen eine gelblich- bis schwarzbraune Färbung. Durch Alkohol sind sie schwer in Lösung zu bringen,

sofern die Zellwand nicht zerdrückt wird; konzentrierte Schwefelsäure läfst sie ungefärbt.

Eigenartige Verhältnisse treffen wir bei den „Dauerzellen“ an.

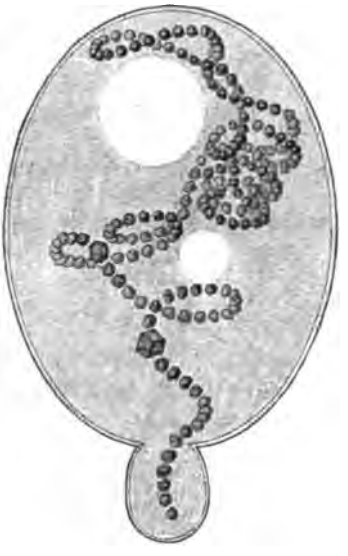


Abb. 160.

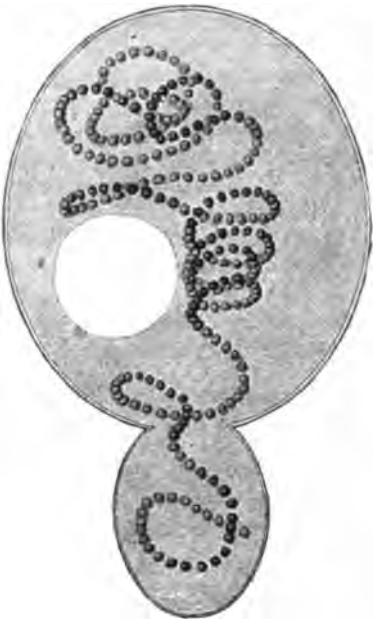


Abb. 161.

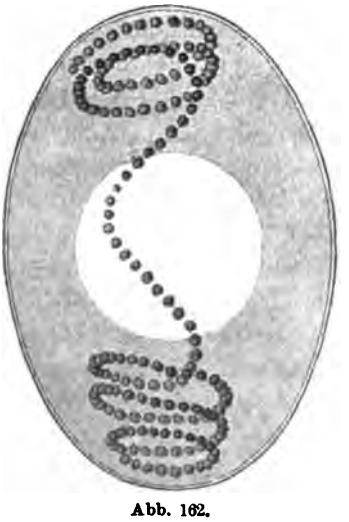


Abb. 162.

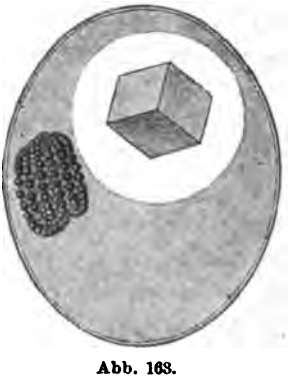


Abb. 163.

Unter Dauerzellen versteht Will die in Kahmhautbildungen und Hefenringen häufiger vorhandenen rundlichen Zellen mit stark verdickter Membran und reichlichem Gehalt an Glykogen und Öltröpfchen.

Solche Dauerzellen liefsen sich aufser in den Kulturen von Bierhefen auch im Brauereibetrieb selbst finden, im Schlamme, an Gärkellerwänden, an Gärbottichen u. s. w. In Kulturen bilden sie sich auch mitunter auf dem Boden der Gefäfse.

An solchen Dauerzellen, die meist zu mehreren als kugelige Sprossen an einer Mutterzelle sich entwickeln, beobachtet man nicht selten auch eine Schichtung und Häutung der Zellwand.

Erstere wird besonders deutlich nach Behandlung mit konzentrierter Salzsäure. Die Öltröpfchen färben sich mit Osmiumsäure schwarzbraun, mit Alkanna zinnoberrot. Innerhalb der Zellen können sie durch Alkohol,

Abb. 164.

Abb. 165.

Abb. 160—165. Vergrößerung etwa 5000 : 1 linear.

Abb. 160—162. Lebende Hefezellen in optischer Durchschnittsansicht mit sehr lockeren Centralfäden in verschiedenen Verschlingungen. — Abb. 163. Eine solche mit zu einem dichteren Knäuel verschlungenen Centralfäden und einem grofsen Krystalloid in der Vakuole. — Abb. 164. Hefezelle in optischer Durchschnittsansicht, fixiert und mit Essigkarmin gefärbt. An Stelle des homogenen Plasmas liegen Reihen von Körnchen. In der Mitte der zusammengezogene Centralfaden, welcher die auch bei der lebenden Zelle sichtbaren Körnchen enthält, die bei der betreffenden Zelle im Verhältnis ungefähr doppelt so grofs waren, als sie bei der fixierten Zelle in 5000 facher Vergrößerung gezeichnet sind. Auch die in der Rindenschicht nach der Fixierung erschienenen Körnchen sind in der Regel kleiner. — Abb. 165. Oberflächenansicht einer ähnlichen, für die Beobachtung günstigen Zelle. Die Vakuole befand sich in der oberen Hälfte der Abbildung, der Centralfaden an der unteren Seite der Vakuole, dieselbe in mannigfachen Windungen halbmondförmig umgebend. Beide sind nicht in der Abbildung sichtbar. (Nach Hieronymus.)

Äther, Benzol und Schwefelkohlenstoff nur schwierig angegriffen werden, weil sie noch eine andere, eiweifshaltige Substanz enthalten, die wie eine Blase sie umgiebt.

Eine bemerkenswerte Reaktion geben die Fettkörperchen mit konzentrierter Schwefelsäure. Zuerst tritt eine graugrüne, dann eine schwarzbraune Färbung auf. Zuweilen färben sich die Tropfen sehr rasch braun, dann smaragdgrün, weiterhin blaugrün und zuletzt blauschwarz; es kann aber auch eine smaragdgrüne oder eine grünliche Färbung allein auftreten. Bei längerer Wirkung der Schwefelsäure werden häufig die gefärbten Tropfen vakuolisiert. 10 %ige Kalilauge entfärbt und löst sie allmählich.

Die Dauerzellen sind meist glykogenhaltig.

Bei einer Unterhefenart wurde eine Rahmhautbildung beobachtet, die fast nur aus Dauerzellen bestand.

Typische Kahmhefen zeigen oft eine gewisse Gesetzmäfsigkeit in der Zahl, Gröfse und Stellung der Fetttröpfchen. Manche Arten bilden solche nur ganz ausnahmsweise. Dafs sie die Rolle von Reservestoffen spielen, ist wahrscheinlich, trotzdem kann man beobachten, dafs ältere, grofse Fetttropfen haltende Zellen, wenn sie in frischer Würze zum Auskeimen gebracht werden, diese völlig unangetastet lassen.

Gerbsäurereaktion.

Nach Will giebt der Inhalt abgestorbener Hefezellen mitunter die Seydasche Gerbsäurereaktion: purpurrote Färbung nach Zusatz verdünnten Goldnatriumchlorids.

Die in frisch geimpften Würzekulturen neugebildeten Zellen ergaben in keinem Stadium eine solche Färbung.

Glykogen.

Häufig begegnen wir Zellen mit homogenem, dabei aber stark lichtbrechendem Plasma. Der Stoff, welcher dem Plasma diese Eigenschaft verleiht, ist das Glykogen, ein Körper, der zwischen Stärke und Fett eine Mittelstellung einnimmt und der wegen seines Vorkommens in tirischen Organen (Leber) auch als tierische Stärke bezeichnet worden ist. Behandelt man nach Lintner Hefe mit Kochsalz, so verschwindet das Glykogen allmählich, ohne dafs eine Selbstgärung der Hefe eintritt. Dafür kann man im wässrigen Extrakt der Hefe einen Körper nachweisen, der sich wie Traubenzucker verhält. Mit Jod-Jodkaliumlösung giebt Glykogen eine rotbraune Färbung (Glykogenreaktion), während das Plasma sich mit Jodlösung nur gelb färbt.

Am Schlufs der Hauptgärung ist die Kulturhefe immer ziemlich reich daran. Nach Angaben von Laurent soll die Hefe bis 32,28 % Glykogen in der Trockensubstanz enthalten können. In den ersten Stadien der Hauptgärung ist es mit verdünnter Jodlösung nicht nachweisbar oder nur nach dem Erhitzen der Hefe auf dem Objektträger.

Eine Jodlösung von 100 Wasser 20 Jodkalium und 7 Jod giebt stets eine scharfe Reaktion, sofern überhaupt Glykogen vorhanden (Meifsner).

Auch in Hefen, die in Würze gar nicht oder nur sehr wenig gären, z. B. Saccharomyces Bailii, ist reichlich Glykogen anzutreffen, und zwar merkwürdigerweise nicht in gleichmäfsiger Verteilung, sondern nur an bestimmten Stellen des plasmatischen Inhalts der Zelle. Das Plasma ist von ihm dort gleichsam durchtränkt.

Wenn dickbreiige Hefe in Selbstgärung[1]) übergeht, verschwindet das Glykogen in der Mehrzahl der Zellen, ebenso, wenn Hefe lange Zeit unter Wasser stehen bleibt.

Nur vereinzelt findet man Zellen, die ihren Glanz behalten. Diese sind abgestorben; ihr Plasma vermag das Glykogen nicht mehr umzusetzen.

Für Weinhefen hat Meifsner festgestellt, dafs auch hier gegen das Ende der Hauptgärung am meisten Glykogen in der Zelle gespeichert wird; später erfolgt eine allmähliche Abnahme und zwar schon zu einer Zeit, wo noch 0,5—1 % unvergorener Zucker vorhanden ist. Man soll den Abstich des Weines von der Hefe schon zu einer Zeit vornehmen, wo letztere noch Glykogen enthält.

Wenn wir Betriebshefe unter Luftabschlufs zwischen Objektträger, Deckgläschen und Vaselinring lange Zeit halten, dann sterben die meisten Zellen allmählich ab; an einzelnen Punkten aber erwacht neues Leben, es entstehen herrliche Sprofsbäumchen, deren Gliederzellen ein homogenes, stark glänzendes und glykogenhaltiges Plasma aufweisen. Woher kommt dieses und welche Rolle spielt es bei fehlendem Sauerstoff? Solche Zellen in frische Würze gebracht, sprossen schnell aus und verhalten sich wie junge Hefe.

Auch in der Frage der Nachgärung dürfte das Glykogen eine Rolle spielen.

Bei der sogenannten „Hefespundung", welche Verf. vielfach empfohlen hat, wird man darauf achten müssen, dafs man dazu glykogenhaltige Hefe verwendet.

Alfred Koch und Hans Hosäus haben aus Kaninchenleber, Kalbsleber und Preßhefe dargestellte Glykogenlösung durch Hefe zur Vergärung bringen wollen, es ist ihnen jedoch nicht geglückt; sie halten es aber nicht für ausgeschlossen, dafs im Zellinnern befindliches Glykogen in Alkohol und Kohlensäure zerlegt werden könne. Beimischung von Glykogenlösungen zu gärender Würze übte eine hemmende Wirkung auf die Hefenvermehrung aus.

Cremer hat gezeigt, dafs ausgehungerte, mit Jod keine Glykogenreaktion (Braunfärbung) mehr gebende Hefe in 5—10 %igen Lösungen von Traubenzucker, Lävulose, Rohrzucker sehr bald, bei Traubenzucker schon nach 3—4 Stunden wieder eine intensive Glykogenbildung aufweist. Auch d-Galaktose und d-Mannose gaben solche nach 2 Tagen. In Lösungen von Arabinose, Rhamnose, Sorbose, Glycerin, Milchzucker blieb sie aus. Cremer nimmt an, dafs die Vergärbarkeit der Lävulose

[1]) Die Alkoholausbeute bei der Selbstgärung frischer untergäriger Bierhefe betrug in 2 Versuchen von Lintner 5,6—7,7 % der Hefetrockensubstanz. In beiden Fällen war Natriumsulfat zugesetzt worden, welches eine fördernde Wirkung auf die Selbstgärung ausübt. Chloride verhindern geradezu die Selbstgärung.

nur durch die Umwandlung in Dextrose resp. Glykogen durch die Hefenzelle ermöglicht werde. Cremer ist neuerdings auch der Nachweis gelungen, dafs der Buchnersche Hefenpreſssaft aus gärungsfähigem Zucker Glykogen zu bilden vermag.

Effront hat gefunden, dafs der durch Zerreiben mit Bimstein erhaltene Hefenpreſssaft die Eigenschaft besitzt, nach Einbringen in Glykogenlösung eine Temperatursteigerung hervorzurufen.

Buchner hat ebenfalls konstatiert, dafs Preſssaft Glykogen vergärt, wenn auch sehr träge.

Das Enzym, welches Glykogen hydrolisiert, ist nicht aus der Zelle ausziehbar.

Meifsner sieht in dem Glykogen einen transitorischen Reservestoff, der die Zelle befähigt, immer neue Zuckermengen anzuziehen und diese in Gärung zu setzen, was in dem Konkurrenzkampf mit den anderen Organismen von Bedeutung ist.

Die Neubildung und das Verschwinden des Glykogens in der Zelle sind Prozesse, die gleichzeitig nebeneinander verlaufen können.

Eiweifsreaktionen.

Da die Hefe reich an Plasma, also an eiweifsartigen Verbindungen ist, müssen wir bei ihr auch die mikrochemischen Reaktionen derselben erhalten.

Rührt man dickbreiige Hefe mit etwas Rohrzucker und konzentrierter Schwefelsäure auf einem Porzellanteller zusammen, so erhält man eine schön rosenrote Färbung (Raspailsche Reaktion).

Die Xanthoproteïnreaktion erhält man durch Auftupfen von Salpetersäure auf die mit Ammoniak oder Kalilauge vorher befeuchtete Hefe. Letztere nimmt hierbei eine citronengelbe Färbung an.

Wenn wir Natronlauge zu weifser, dickbreiiger Brauerei-Betriebshefe geben, sehen wir zunächst die etwa vorhandenen Flockenbildungen sich zerteilen, alsdann tritt eine schmutzig-gelbliche Färbung in der ganzen Masse auf. Bringen wir eine Probe davon unter das Mikroskop, so sehen wir jetzt die Zellen einzeln schwimmen; die Vakuolen sind vielleicht noch vorhanden, verschwinden aber, sobald wir noch weiter Natronlauge zum Präparat hinzufügen. Das Plasma quillt durch die Natronlauge auf und entzieht der Vakuole das dazu nötige Wasser. Bei längerer Einwirkung der Lauge stirbt die Zelle ab. An zerquetschten Zellen sieht man oft den entleerten Inhalt noch hängen; derselbe ist oft zur 4fachen Gröfse angeschwollen.

Lösungen von Anilinfarbstoffen werden von lebenden Zellen nicht aufgenommen. Abgestorbenes Plasma dagegen besitzt eine aufserordentliche Tinktionsfähigkeit. Zellen, welche durch Erhitzen oder durch Reagentien, wie absoluten Alkohol, Chromsäure, Sublimat, konzentrierte

Anilinlösungen u. s. w., getötet wurden, speichern momentan den Farbstoff auf. Zum Nachweis toter Hefezellen bedient man sich gewöhnlich des Methylenblau, aber auch jede andere Anilinfarbe, wie Fuchsin, Gentianaviolett, Bismarckbraun, eignet sich dazu.

Sind Sporen in der getöteten Zelle vorhanden, so dauert es längere Zeit, ehe sie vom Farbstoff durchtränkt werden. So schwierig die Spore den Farbstoff aufnimmt, so sehr hält sie ihn aber auch fest. Wir können den übrigen Zellinhalt durch Anwendung von Glycerin, Alkohol oder schwache Säure völlig entfärben, während die Spore gefärbt bleibt. Lassen wir jetzt eine zweite Farblösung einwirken, so erhalten wir eine Doppelfärbung, wobei die Spore die erste Farbe behält.

Da bei Anwendung der Färbungsmethoden die Hefezellen an Form und Gröfse Veränderungen erleiden, hat die Herstellung solcher gefärbter Dauerpräparate zumeist wenig Zweck. Die genaueren Details werden durch die Farbe ganz verdeckt, wenn sie nicht schon vorher durch das Schrumpfen der Zellen verloren gegangen sind.

Hier ist eine gute Photographie das beste Dauerpräparat, das uns unverändert den jeweiligen Zustand der Hefenzelle wiedergiebt.

Lebensdauer der Hefe.

In trockenem Zustande kann sie monate- und auch jahrelang lebensfähig bleiben. Will fand, dafs die Art des Eintrocknens, die Temperatur, der Luftzutritt und noch eine Menge anderer Dinge die Lebensdauer beeinflussen können. Günstig wirkt hier niedrige Temperatur, Aufbewahrung in geschlossenen Gefäfsen, geringer Wassergehalt (ca. 3 bis 6 %) und beim Trocknen ein allmähliches Steigen der Temperatur bis auf 40° C. Als beste Beimischung zur Hefe hat sich Holzstoff bewährt. Asbest, Holzkohle, Papier und Gips hatten nicht so konservierende Eigenschaften.

Sogar 12jährige Konserven enthielten noch lebende Kultur- und wilde Hefen, sowie Bakterien. Letztere beiden Gruppen lieferten jedoch am meisten lebensfähige Zellen.

Solch alte Hefenkonserven zeigten zumeist schwache Gärungserscheinungen, sobald sie in frische Würze gebracht wurden. Die wenigen lebend gebliebenen Zellen konnten diese unmöglich bewirkt haben. Es ist die Zymase der abgestorbenen Zellen hier noch thätig gewesen.

Diese sogleich eintretende Gärung schützt die noch lebende Hefe so lange vor Bakterien, bis diese selbst so weit in Gang gekommen ist, dafs sie den Kampf mit letzteren aufnehmen kann.

Das Trocknen wirkt bei verschiedenen Hefen sehr schwächend. S. lactis (Duclaux) verträgt nicht einmal das Austrocknen bei 25° C., während S. lactis (Adametz) 118° im trocknen Zustand verträgt. Wie erstere

verhält sich auch eine aus Augustiner Flaschenbier rein gezüchtete und eine Champagner-Hefe. Interessant ist die Angabe von Kayser, dafs sich aus Sporen der Augustiner Bierhefe, die eine höhere Temperatur überstanden hatte, vegetative Zellen ziehen liefsen, welche nun das Eintrocknen gut ertrugen. Will schlägt die Methode der trocknen Konservierung für Reinzuchtlaboratorien vor. Die Hefen würden beim Auffrischen ihre alten Eigenschaften zeigen. In Flüssigkeiten stirbt die Hefe im allgemeinen schneller ab; wenn gesagt wird, dafs in ganz alten Gärflüssigkeiten noch lebende Zellen gefunden wurden, so ist das nicht so zu verstehen, als ob die noch lebenden Hefezellen ebenso alt seien wie die Kultur, sondern die noch lebensfähigen Zellen haben sich jedenfalls erst viel später entwickelt. Die jüngsten Zellen sind häufig zuerst dem Tode verfallen; ältere Zellen, die schon beinahe inhaltsleer sind, können sich wieder vollkommen verjüngen und mit Plasma füllen, sowie noch zur Bildung einer gröfseren Anzahl von Tochterzellen sich anschicken. Die Ursachen des plötzlichen Absterbens junger Zellen bei Vorhandensein günstiger Wachstums- und Ernährungsbedingungen sind uns noch völlig rätselhaft. Desgleichen ist es unaufgeklärt, woher es kommt, dafs manche Zellen nur eine spärliche Nachkommenschaft bilden, während in einem andern Tropfen derselben Würze Tausende von Zellen entstehen. Dafs es an der Konstitution der Zellen und nicht etwa an Veränderungen der Würze liegt, ergiebt sich daraus, dafs eine Übertragung von Zellen aus dem letzteren in den ersten Tropfen sofort eine zahlreiche Sprossung zur Folge hat, die dann dasselbe Endresultat bezüglich der Zellenzahl giebt. In anderen Fällen wurde noch beobachtet, dafs eine ganz gesund aussehende Zelle überhaupt nicht aussprofste, oder dafs Zellen zwar aussprofsten, aber nach einigen Tagen das Wachstum einstellten, um es später plötzlich an irgend einer Stelle des krank aussehenden Sprofsverbandes wieder aufzunehmen. Es ist, als ob der Organismus eine Krankheit überstanden hätte und nun mit doppelter Lebenskraft an die Arbeit geht.

Hansen hat 42 Saccharomyces-Arten in 10 %iger Rohrzuckerlösung aufbewahrt. Carlsberg I und einige wilde Hefen sind darin über 17 Jahre alt geworden, viele andere 16 Jahr. In besonderen Versuchen war die Luft abgeschlossen: hier waren nach kaum 2 Jahren alle Zellen abgestorben.

In Bierwürze findet ein zeitigeres Absterben statt.

Wenig Hefe in viel Wasser aufbewahrt, starb nach einigen Monaten bereits ab.

Viel Hefe in wenig Wasser wurde bis 11 Jahre alt; dabei vielfach Sporenbildung beobachtet.

Auf Baumwolle getrocknete Hefe hält sich ungefähr doppelt so lange als auf Filtrierpapier getrocknete.

Obwohl von Flüssigkeiten eine Rohrzuckerlösung am besten die Eigenschaften einer Hefe zu konservieren scheint, sind doch auch von Will und Thausing vereinzelt gegenteilige Erfahrungen gemacht worden.

Will ist der Ansicht, dafs es namentlich die Zellen der Häute sind, welche eine Nachkommenschaft mit anderen Eigenschaften in der Praxis geben können.

Hansen glaubt auch in dem zu langen Sterilisieren der Würze im Reinzuchtapparat eine Ursache kleiner Veränderungen der Hefe erkannt zu haben.

Die Zellhaut der Hefe

enthält aufser Cellulose und pektinartigen Verbindungen noch plasmatische Bestandteile und ist daher stickstoffhaltig. Die Cellulosereaktion (Blaufärbung bei Zugabe von Jod und konzentrierter Schwefelsäure) erhält man nicht ohne weiteres.

Die Haut ist elastisch, wie man beim Zerdrücken der Zellen, sowie beim Platzen derselben infolge Anschwellung der Sporen beobachten kann. Manche Zellen, namentlich die „Dauerzellen“ in älteren Kulturen, werfen die äufserste Hautschicht ab, häuten sich also (hauptsächlich Torulaarten); bei anderen quillt dieselbe stark auf, so dafs die Zelle von einem breiten Hof umgeben erscheint (Torula pulcherrima, Orangehefe u. a.).

Bei einigen Arten wechselt im Laufe der Kultur die Beschaffenheit der Zellwand; so wurde namentlich bei Torulaarten, die auf Würzegelatine einen schleimigen Belag bildeten, plötzlich das Auftreten harter knorpeliger Massen beobachtet, die sich zwischen Deckglas und Objektträger nur schwer zerteilen liefsen. Auch in Würzekulturen erschienen als Hautbildungen glänzende, knorpelige Massen. Eine aus Kefyr isolierte Hefe (Nr. 199) zeichnet sich ebenfalls durch Bildung ziemlich harter Massen aus, die inselartig auf der Würze wachsen.

Staubige und flockige Hefe. Die Zellwand nimmt häufig eine klebrige Beschaffenheit an und bedingt dadurch die Bildung gröfserer Flocken. Für die untergärigen Kulturhefen ist diese Erscheinung besonders charakteristisch. Obergärige Hefen können zwar auch flockige Gebilde geben, aber der Zusammenhang ist doch meist nicht so fest wie bei jenen.

Man rühre etwas obergärige Hefe mit Wasser auf einem Objektträger zusammen und lasse zunächst ruhig absitzen. Die Hefe bildet ziemlich schnell einen zusammenhängenden Belag, der sich dem Glase fest anlegt. Bewegt man den Objektträger nun in horizontaler oder etwas schräger Richtung, so sieht man, wie die Hefenschicht zerreifst und kleine Klümpchen ins Rollen kommen. Legt man den Objektträger

nun unter das Mikroskop, und beobachtet man die einzelnen Klümpchen, so bemerkt man, wie die zu oberst gelegenen Zellen seitlich abfliefsen und im Wasser sich wieder verteilen. An Stelle der Klümpchen sieht man dann unscharf begrenzte Hefenflecke. — Ganz anders bei den untergärigen Kulturhefen. Beim Schwenken des Objektträgers beobachten wir schon, wie kleinere Flocken zu gröfseren sich vereinigen und wie selbst gröfsere Flocken noch zusammenbacken. Diese Flocken erhalten sich sehr lange Zeit unverändert. Interessant ist noch folgende Erscheinung: Läfst man auf eine Glasplatte, auf der obergärige Hefe sich eben aus der dünnen Wasserschicht abgesetzt hat, einen Tropfen Wasser fallen, dann entstehen zierliche Figuren mit konzentrischen Ringen. Macht man dasselbe Experiment mit Unterhefe, dann kommen nur ganz verschwommene Bilder zum Vorschein. Die Unterschiede werden offenbar nur durch die verschiedene Klebrigkeit der Zellhäute bedingt.

In den Lufthefefabriken ist das Auftreten von flockiger Hefe nicht gern gesehen. Die Ursache dieser Erscheinung ist noch nicht eruiert.

Die Prefshefenfabriken nach dem alten Verfahren geben wohl durchweg staubige Hefe.

Darauf ist seinerzeit vom Verf. eine Methode gegründet worden, um Unterhefe in Prefshefe nachzuweisen.

Die Mehrzahl der wilden Hefen verteilen sich im Wasser wie Staub. Ein Zusammenkleben von gröfseren Zellenmassen kommt hier entweder gar nicht oder nur in ganz spärlicher Weise zum Vorschein. Eine Flockenbildung, die mit der vorigen nichts zu thun hat, kommt zu stande durch das Anwachsen der Zellen zu grofsen Sprofsbäumchen. Hier sind die Zellen untereinander noch in organischem Zusammenhang. Reichgegliederte Sprofsbäumchen treffen wir bei obergärigen Kulturhefen, sowie bei einzelnen wilden Hefen an.

Staubige Hefen lassen sich von den flockigen leicht durch wiederholtes Schlämmen trennen; nur diejenigen Zellen, die von der Flockenhefe ganz umschlossen worden sind, bleiben zurück. Alkalien oder Alkalisalze, z. B. Natronlauge, Soda, Pottasche, kohlensaures Ammon, auch Säuren wie Schwefelsäure, Weinsäure bewirken eine Lockerung der klebrigen Substanz; die Flockenhefe wird sich dann wie die andere Hefe staubig in der Flüssigkeit verteilen. Zu lange Einwirkung genannter Reagentien wirkt aber tödlich.

Den Hefeflocken beigemengte Substanzen.

Eine eigenartige Wirkung übt die Borsäure auf Hefe aus. Will giebt an, dafs angefeuchtete Bierhefe, mit einer 7%igen Borsäurelösung übergossen, sich sofort in kleinen Klumpen zu traubigen Massen zusammenballt und sich unmittelbar nach dem Schütteln wieder absetzt;

dabei nimmt sie nach längerer Zeit eine reinweifse Färbung an. Die Hefe läfst sich nur schwer durch Aufrühren in Wasser wieder verteilen, da die kleinen Klümpchen fest aneinanderhaften. Beim Aufstreichen auf Gipsplatten zum Abtrocknen knirscht die Hefe und nachher läfst sich die spröde gewordene Masse leicht zwischen den Fingern zu ganz kleinen Partikelchen zerreiben. Die Behandlung von Hefe mit Boraxlösung resp. einer Mischung von borsaurem Kalk und Borsäure bringt ähnliche Wirkungen hervor wie Borsäure. Neuerdings erklärt Will diese Erscheinung aus dem Verhalten des Borax[1]) gegen die der Hefe beigemengten gummiartigen Körper. Letztere werden zusammengeballt und schliefsen die Hefe mechanisch ein.

Die Prefsfähigkeit der Bierhefe steht jedenfalls im Zusammenhang mit der Gegenwart solcher schleimigen Stoffe.

Sowohl Würze wie Bier enthalten neben gummiartigen Körpern noch Eiweifs in sehr aufgequollenem Zustande; dieses wird durch die Hefe mit zu Boden gerissen, resp. durch die Kohlensäureblasen aufgetrieben in die Kräusen. Die Aufnahmefähigkeit einer Hefe für Äther giebt einen Mafsstab für die Mengen der beigemischten gequollenen Eiweifskörper. Oberzeug enthält von diesen mehr als Kernhefe, wie aus folgenden Beispielen ersichtlich.

Bottich E { 6 ccm Oberzeug nahmen auf 17 ccm Äther
6 „ Kernhefe „ „ 11 „ „

Bottich F { 6 ccm Oberzeug nahmen auf 16 ccm Äther
6 „ Kernhefe „ „ 12 „ „

Bierhefe, in Zuckerwasser gebracht, giebt nach Pasteur aufser Phosphaten auch albuminhaltige Körper ab.

Will brachte eine Spur Hefe in einen Pasteurkolben mit Hayduckscher Nährlösung. Nach 8 Tagen gab die filtrierte wie unfiltrierte Flüssigkeit mit Äther Eiweifsbläschen, die nach Verdunstung des Äthers zu einer Haut kollabierten.

Die abfiltrierte Hefe gab bei Ätherbehandlung nur wenig Ätherbläschen von der gleichen Beschaffenheit wie die Flüssigkeit. In letzterer wurde ein 24 Stunden lang haltbarer Schaum (Eiweifsreaktion) erhalten, wenn die Flüssigkeit tüchtig mit Luft geschüttelt wurde.

Die Bodensatzhefe liefs eine netzförmig zwischen den Zellen eingelagerte, beim Anfärben mit Anilin sich intensiv färbende granulierte Substanz erkennen.

Zu erwähnen ist hier noch die Erscheinung der sogenannten Netzbildung. Diese kommt dadurch zu stande, dafs der eigne Zellhautschleim oder auch die geformten und ungeformten Eiweifskörper, gummiartige Stoffe u. s. w., welche mit der Hefe aus der Würze zu Boden

[1]) Borax verdickt Pflanzenschleime und Lösungen des Gummi arabicum zur Gallerte.

fallen, durch den Druck der Zellen fester zusammengepreſst werden und so eine zusammenhängende Masse bilden, die wabenförmig die einzelnen Zellen umgiebt. Beim Zerreiben eines solchen Klumpens in wenig Wasser, oder besser noch in konzentrierter Zuckerlösung, fallen die Zellen aus den Höhlen heraus und das Netzwerk wird sichtbar. Nur selten erscheint dieses von gröſserem Umfange, gewöhnlich bekommt man bei der Herstellung des Präparates nur die Bruchstücke in Form dünner Lamellen, von denen zumeist 3—4 in einem Punkt zusammenstoſsen (Eckstücke der Waben), zu sehen. Näheres ist Seite 217 darüber gesagt.

Die Kulturhefen.

Nach den äuſseren Erscheinungen, die sie in den Gärflüssigkeiten hervorrufen, unterscheiden wir zwischen obergärigen und untergärigen Kulturhefen.

Die obergärigen Hefen geben hefige, die untergärigen hefenarme Kräusen; bei den untergärigen Hefen sammelt sich die produzierte Hefe fast nur am Boden an, bei den obergärigen können wir auſser der Bodensatzhefe noch eine Deckenhefe ernten. Es existieren aber auch obergärige Rassen, die nur spärliche Ernten in der Decke liefern, und andererseits untergärige Rassen, die längere Zeit hefige Decken selbst bei niederer Gärtemperatur geben (Nr. 550 unserer Sammlung).

Auch der physiologische Zustand der Zellen spricht bei der Deckenbildung mit. Obergärige Reinhefen geben in der ersten Gärung öfter nur wenige hefige Decken, später werden letztere ganz normal.

Früher glaubte man, daſs die Unterschiede in den Gärungserscheinungen durch die verschiedenen Temperaturen, bei denen die Hefen ihre Thätigkeit ausüben, bedingt seien, zumal man beobachtet hatte, daſs bei niederer Temperatur die Deckenbildung der Oberhefe nicht so kräftig auftritt.

Sofern man mit Reinhefen unter den in der Praxis üblichen Verhältnissen arbeitet, wird es aber nur ganz ausnahmsweise gelingen, mit einer Unterhefe typische obergärige Decken zu erhalten, auch bei den Temperaturen nicht, welche in obergärigen Brauereien bei der Gärung in Anwendung kommen. Eine Berliner Brauerei führte viele Jahre hindurch zwei Hefen, eine unter- und eine obergärige, in demselben Gärkeller und in derselben Würze bei der gleichen Temperatur, ungefähr 15° C.; dabei ist eine Veränderung des Charakters des untergärigen Zeuges nicht eingetreten; die Decken sind stets hefenarm geblieben, im Gegensatz zu denen der Oberhefe. Andererseits giebt es Brauereien, die seit Jahren ihre Würzen mit obergäriger Hefe bei niederen Temperaturen anstellen, und immer noch hat die Hefe ihre obergärige Natur nicht verleugnet. Die Decken sind stark hefig und konsistent.

Wir müssen demnach sagen, dafs unsere Oberhefen und Unterhefen im allgemeinen verschiedene Dinge sind.

Sowohl die Gruppe der Oberhefen als auch die der Unterhefen umfafst wiederum eine Anzahl verschiedener Arten.

Je nach ihrem specifischen Charakter werden sich die einzelnen Arten bald in der Brauerei oder in Brennereien und Preſshefenfabriken mit Vorteil verwenden lassen. In der Brauerei kommt es im allgemeinen auf einen guten Geschmack des Bieres und auf gute Klärung an, in der Brennerei auf eine energische Entfaltung der Gärthätigkeit

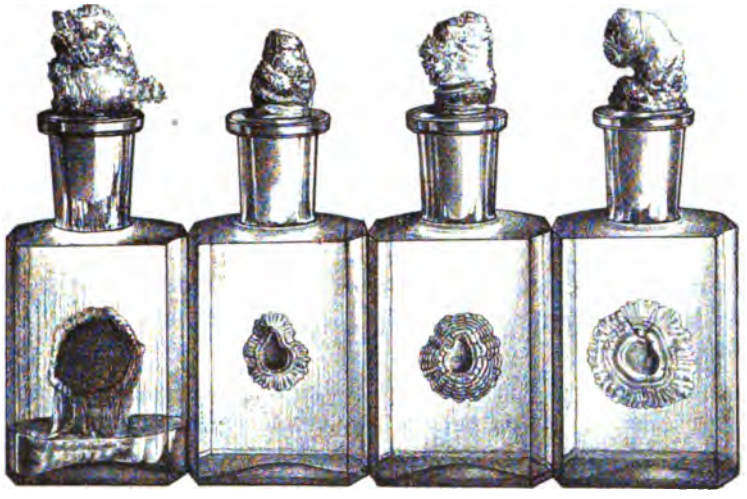


Abb. 166.

Riesenkolonien von vier verschiedenen Hefen, welche gleichzeitig aus einer Betriebshefe einer untergärigen Brauerei isoliert worden sind (von Dr. Schönfeld).

Kulturen ca. vier Wochen alt. Die Hefe in der ersten Flasche hat bereits die Gelatine verflüssigt. Von diesen vier Hefen gehört die erste und dritte dem Typus Saaz an, die zweite und vierte dem Typus Frohberg.

und auf hohe Alkoholausbeuten, in der Preſshefenfabrik auf hohe Hefenausbeuten und auf eine grofse Triebkraft.

Es ist irrig, wenn man glaubt, dafs zwei Hefen, welche in derselben Würze gleich weit vergären, dieselbe Verwertung in den Betrieben finden können; es kommt auch noch auf die anderen Eigenschaften der Hefe an, und hier treten oft aufserordentliche Verschiedenheiten zu Tage. Keine obergärige Brauerei wird es wagen, die Hefe der Preſshefenfabriken als Anstellhefe zu verwenden, wenngleich diese ebenfalls obergärig ist [1]).

---

[1]) Delbrück hat in der Abhandlung „Natürliche Hefereinzucht“ sehr übersichtlich alle jene Verhältnisse erörtert, unter denen die Hefen der verschiedenen Gärungsgewerbe ihre Thätigkeit entfalten müssen, und er hat aus dem ungleichen

Verhalten der Kulturhefen gegen Zuckerarten.

Bezüglich des Gärvermögens in Bierwürze haben wir schon aus den Tabellen I und II und von Seite 204 entnommen, dafs es schwach und stark vergärende Arten giebt, sowohl in der untergärigen als auch in der obergärigen Gruppe. Diese Unterschiede kommen zu stande durch das verschiedene Verhalten gegenüber den einzelnen in gekochten diastasefreien Würzen oder Maischen vorhandenen vergärbaren Bestandteilen. Ist nur vergärungsfähiger Zucker vorhanden, dann vergären auch die schwach vergärenden Arten denselben bis zu Ende.

Bau hat nach chemisch-physiologischen Gesichtspunkten die Kulturhefen in vier Gruppen eingeteilt.

Er unterschied einen Typus Saaz obergärig und untergärig (S.-O. und S.-U.), sowie einen Typus Frohberg obergärig und untergärig (F.-O. und F.-U.)[1]).

Über den Bestandteil der Würze, welcher von Frohberg vergoren, von Saaz nicht vergoren wird, wissen wir noch nichts Endgültiges.

Als untergärige Saazhefen kennen wir nur Nr. 6, 626, 627 und 630; als obergärige Saazhefen Nr. 150, 159, 160, 403, 457, von Brennereihefen nur Nr. 130.

Ob eine Hefe obergärig oder untergärig sei, glaubte man bisher auch durch das Verhalten gegen Melitriose (Raffinose) bestimmen zu können. Die von Bau untersuchten obergärigen Kulturhefen vom Typus Saaz und Frohberg vermochten nicht Melibiose zu spalten; es mangelt ihnen das Enzym, das er Melibiase genannt hat. Die von ihm untersuchten untergärigen Kulturhefen besafsen dieses Enzym. Verfasser hat jedoch einige untergärige Hefen gefunden, die in den Gärversuchen

---

Verhalten der Kulturhefen gegenüber diesen Anforderungen der Praxis auch die Erscheinung begründet, weshalb in der Brauerei z. B. keine Brennereihefe aufzukommen vermag und in der Brennerei keine Brauereihefe u. s. w. Die Broschüre schildert also hauptsächlich den Kampf ums Dasein der verschiedenen Heferassen unter den verschiedenen Bedingungen der Praxis und die Chancen, welche einzelne Rassen haben, als Sieger in dem Kampf hervorzugehen. — Wenn erst der Streit um die Worte „natürliche“ und „künstliche“ Hefereinzucht ausgeklungen sein wird, wird man auch dem Inhalt eine gröfsere Würdigung zu teil werden lassen. Es sind nirgendwo sonst so klar und bündig die gegenseitigen Beziehungen der einzelnen Gärungsgewerbe entwickelt wie hier, und daher ist die Broschüre einem jeden, der die Schwelle der Gärungsgewerbe überschritten hat, zur Belehrung und Orientierung anzuempfehlen.

[1]) Diese Namen Saaz und Frohberg dienten ursprünglich zur Bezeichnung der Herkunft zweier untergärigen Brauereihefen, welche Verfasser isoliert hatte. Hefe Saaz stammt aus einer Saazer Brauerei, die Hefe Frohberg stammt aus der Brauerei des Herrn Frohberg in Grimma. In der Sammlung führen sie die Nummern 6 und 19.

mit Melibiose diese so gut wie gar nicht vergoren (Hefe Nr. 218 und 389 unserer Sammlung), andererseits hat er obergärige Hefen ihr gegenüber wirksam gefunden (die Brauereihefen Nr. 405, 330, 426 und 640, die Preßhefen 139, 487, 430, die Brennereihefen 646).

Die meisten Weinhefen und auch sehr viel wilde Hefe von durchaus untergärigem Charakter lassen auch Melibiose unberührt.

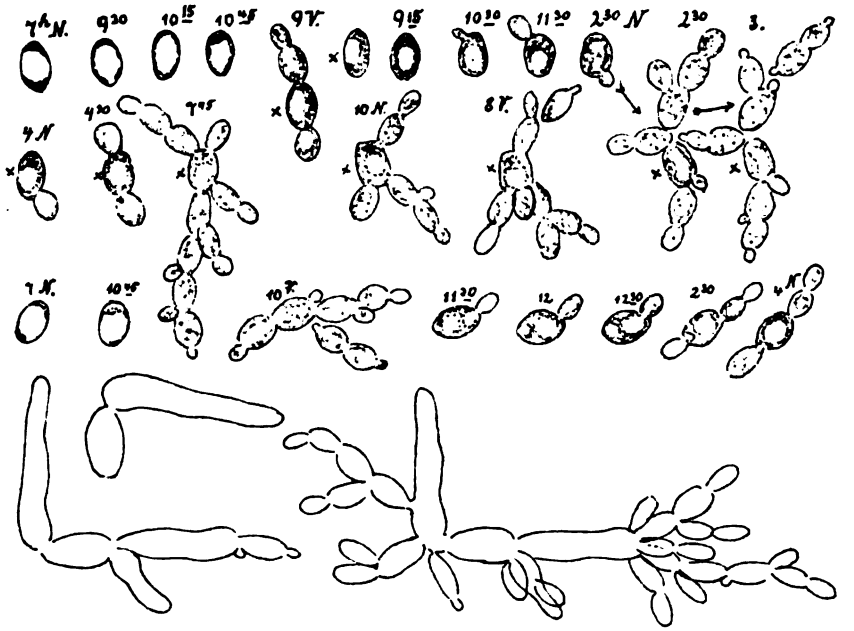


Abb. 167. Keimung alter Zellen in frischer Würze.

Erste und zweite Reihe: Gang der allmählichen Verjüngung und Vermehrung einer 3—4 Wochen alten Zelle. Beginn der Beobachtung 7 Uhr nachmittags. Nach 14 Stunden um 9 Uhr vormittags sind inkl. Mutterzelle vier Zellen schon vorhanden; die Mutterzelle ist in dieser und den nächstfolgenden Abbildungen mit einem liegenden Kreuz bezeichnet. Um 3 Uhr nachmittags, also nach 20 Stunden, sind bereits 17 Zellen sichtbar; es beginnt bereits der Zerfall des Sprofsverbandes. Um 8 Uhr vormittags des dritten Tages, also nach 37 Stunden, zeigt sich die Mutterzelle noch in voller Thätigkeit, bereits die achte direkte Tochterzelle ist aus ihr hervorgesproßt. — Dritte Reihe: Beobachtung einer anderen Zelle. Hier wolle man besonders die Veränderungen der Vakuolen in den Abbildungen 11^{30} bis 4N verfolgen. — Die letzte Reihe stellt die Entwicklung einer aus einer zwei Monate alten Würzegelatinekultur herausgenommenen, abnorm gestalteten Zelle der Hefe Saaz dar. In der frischen Würze gehen aus dieser wieder mehr normal aussehende Zellen hervor. Vergrößerung 600fach.

Die untergärigen Bierhefen haben bei den Gärversuchen des Verfassers bis auf eine Ausnahme (Hefe 97) Dextrin nicht vergoren, während bei Hefen aus obergärigen Brauereien Dextrinvergärung häufiger vorkam; noch kräftiger wirkten übrigens die Preßhefen in dieser Beziehung.

Inulin wurde von untergärigen Bierhefen nur von Hefe 97 vergoren; von obergärigen Brauerei- und Brennereihefen auch nur vereinzelt. Trehalose und α-Methylglukosid wurden von den meisten Kulturhefen vergoren. Die β-Verbindung blieb überall unberührt, bis

auf einen zweifelhaften Fall bei 430, einer Preſshefe. Die Pentosen blieben unvergoren. α-Glukose, Mannose, Galaktose, Fruktose, sowie Rohrzucker und Maltose wurden durchweg vergoren.

In der Praxis der Brauereien will man es zumeist nicht haben, daſs die Hefe alle durch sie vergärbaren Stoffe herausnimmt; je nachdem nun durch die Art der Gärführung die Hefethätigkeit früher oder später unterbunden wird, werden die Biere einen höheren oder niederen Vergärungsgrad aufweisen. Dasselbe wird der Fall sein, wenn bei Anwendung derselben Hefe die Maischmethoden geändert werden oder wenn neues Malz verarbeitet wird.

Aber auch dann, wenn Gärführung und Zusammensetzung der Würzen immer unverändert bleiben, kann der Vergärungsgrad sowie das Gesamtbild der Gärungserscheinungen sich bei derselben Hefe doch noch ändern. Dies geschieht namentlich, wenn eine solche zu lange im Betrieb geführt worden ist. Man sagt dann, sie sei degeneriert.

Nach Hayduck ist die Anreicherung der Hefe mit Stickstoff eine der Ursachen der Degeneration. Um die Hefe zu regenerieren, schlägt er vor, sie vor dem Anstellen erst in einer Rohrzuckerlösung gären zu lassen. Dieselbe Menge Stickstoff verteilt sich dann auf eine gröſsere Anzahl von Zellen, die einzelne Zelle wird demnach stickstoffärmer.

Kukla giebt als Ursache einer namentlich in dünnen Würzen häufig auftretenden Degeneration der Hefe das massenhafte Auftreten sogenannter leichter oder verwilderter Zellen an. Ein solches stellt sich z. B. ein, wenn bei der Hefevermehrung mit der Zugabe der frischen Würze zu lange gewartet wird. Die kräftige Hefe hat mittlerweile Vakuolen gebildet und ist dadurch gewissermaſsen in ein Ruhestadium getreten, aus dem sie die frische Würze erst nach einiger Zeit herausbringt. Inzwischen haben aber die weniger kräftigen Zellen mit wäſsrigem, körnigem Plasma infolge einer Nichtausbildung der Vakuolen die Fähigkeit behalten, sofort in der frischen Würze weiter zu sprossen. Es werden so einige Generationen schwächlich konstituierter Zellen gebildet, ehe die kräftige Hefe wieder einsetzt. Mit der Zunahme der leichten Hefe wird der Bruch immer schlechter und der Bodensatz immer ärmer an fester, sogenannter Kernhefe.

Die Erscheinung des Degenerierens der Hefe ist auch in Brauereien, die mit Reinzuchtapparaten arbeiten, also immer frische Hefe zur Verfügung haben, beobachtet worden. Man muſs hier annehmen, daſs die Veränderung des physiologischen Zustandes der Hefe schon im Reinzuchtapparat vor sich gegangen ist. Einzelne jener Brauereien lassen sich, sobald sie merken, daſs die Hefe anfängt abweichende Gärungserscheinungen zu geben, von derselben Hefe wieder einen Satz aus einer Zelle herstellen. Die Nachzucht dieser Zelle kann alsdann im Betriebe wieder auf Monate hinaus normale Erscheinungen geben.

Auch das Umgekehrte ist wiederholt beobachtet worden, dafs die Nachzucht von einer einzelnen Zelle, die einem vortrefflich gehenden Zeug entnommen worden war, nicht einschlug. Eine genügende Erklärung für dieses merkwürdige Verfahren zu geben, sind wir bisher nicht im stande. Selbst das Mikroskop läfst uns hier im Stich; das mikroskopische Bild der guten Hefe kann sich ebenso ausnehmen, als das der degenerierten; in beiden können die Zellen normal und kräftig ausgebildet sein.

Es scheinen einzelne Zellindividuen bei ihrer Ablösung von der Mutterzelle nicht das volle Erbe angetreten zu haben, das anderen Zellen

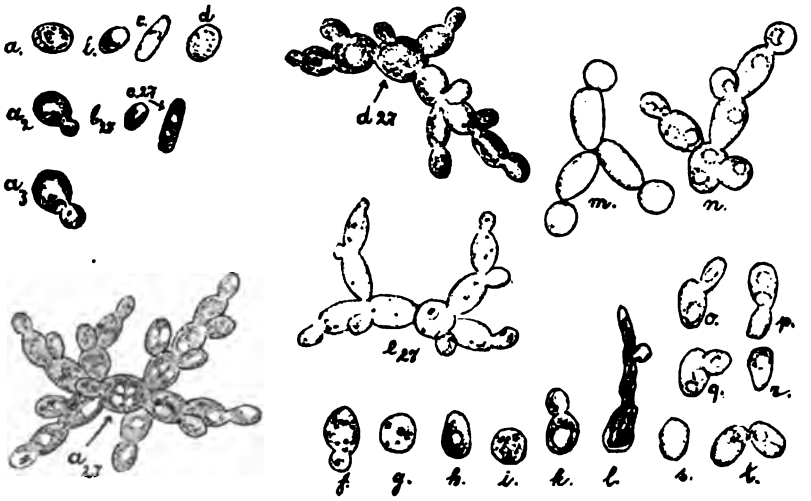


Abb. 168. Keimung alter Zellen bei Luftabschlufs.
Zellen einer untergärigen Reinhefe, die in sterilem Wasser 14 Tage lang gelegen hatten und dann, mit etwas Würze verrührt, zwischen Deckglas, flachem Objektträger und Vaselinring eingeschlossen gehalten wurden. a, b, c, d vier Zellen, sogleich nach der Aussaat gezeichnet; a ist nach 2, 3 und 27 Stunden wieder gezeichnet worden (siehe a_2, a_3 und a_{27}), b, c, d sind ebenfalls nach 27 Stunden gezeichnet; b_{27}, c_{27}, d_{27}, e_{27}, ferner f bis p Bilder von anderen Zellen, 27 Stunden nach der Aussaat gezeichnet; l ist sicher schon abgestorben, die übrigen scheinen noch lebend gewesen zu sein; m und n sind am dritten Tage gezeichnet; m befand sich an einer Stelle des Präparates, wo wenig Zellen, n, wo viele Zellen lagen; das Plasma von m erschien homogen, kräftig, ohne deutliche scharfe Vakuolen, während in n schon solche vorhanden waren. Vergrößerung 600fach.

derselben Abstammung beschert war. Aus der Würze heraus wird das Fehlende nicht ergänzt werden können, es mufs demnach die Nachkommenschaft einer solchen schon degenerierten Zelle auch die Merkmale der Degeneration in Erscheinung treten lassen. Oft wird der Organismus aber auch die Fähigkeit besitzen, sich wieder soweit zu kräftigen, dafs die Gärungserscheinungen allmählich wieder normale werden.

Dafs sich Zellen ein und desselben Satzes (Reinzucht) recht verschieden verhalten können, davon überzeugt uns in einfachster Weise schon eine Tröpfchenkultur. Die Zellen sind ja auch schon hinsichtlich

des Alters sehr verschieden; es giebt offenbar deren eine Menge, die schon eine Anzahl von Gärungen durchgemacht haben. Dafs diese im allgemeinen etwas schwächer im Sprossen und, weil dickwandiger, auch weniger gärkräftig sein werden, erscheint nur natürlich.

Verfasser hat mit Hilfe der Tröpfchenkultur den Nachweis erbracht, dafs alte Zellen, die nur noch einen dünnen Wandbelag von Plasma enthielten, in der frischen Luft sich wieder ihren Plasmabedarf ergänzten und auf diese Weise in den Stand setzten, wie eine junge Zelle neue Tochtersprosse zu treiben.

Will ist der Ansicht, dafs manche unliebsame Erscheinung selbst beim Arbeiten mit Reinhefen sich auf das Auftreten von Kahmhautgenerationen zurückführen läfst. Eine aus einer alten Rohrzuckerlösung oder Würzekultur stammende Hefe braucht erst eine gröfsere Anzahl von Umzüchtungen in Würze, ehe sie zu normalen Erscheinungen wieder gebracht werden kann. Aber nicht blofs das äufsere Gärungsbild ist mangelhaft, auch der Geschmack des Bieres kann durch die Kahmhautgenerationen fad, bitter werden. Es giebt wahrscheinlich Hefenarten, und zwar träge und niedrig vergärende, bei welchen regelmäfsig gegen Schlufs der Hauptgärung häufig reiche Sprofsverbände kleiner ovaler Zellen gefunden werden, welche nach Form und Gröfse den im ersten Entwicklungsstadium der Kahmhaut auftretenden echten Hautzellen gleichen. Es liegt in diesem Falle auch nahe, anzunehmen, dafs der Reifungsprozefs des Bieres auf dem Lagerfafs wesentlich mit auf die Thätigkeit der Kahmhautzellen zurückzuführen ist.

Das Wachstum der Kulturhefen in Riesenkolonien.

Die untergärigen Kulturhefen bilden die einfachsten Riesenkolonien. Der Aufbau ist meist kegelförmig, statt der Spitze finden wir aber eine kleine muldenförmige Vertiefung. Die Masse ist derb und fest, und läfst sich oft mit dem Platindraht die ganze Kolonie von der Gelatine einfach abheben, ohne dafs letztere irgendwie zerrissen wird. Die Kegel zeigen zumeist auf der Mantelfläche eine feine radiäre Streifung. Eine Abweichung kommt z. B. bei 225 dadurch zu stande, dafs im Innern der muldenförmigen Vertiefungen gekröseartige Auswüchse erscheinen. Bei der Hefe Saaz Nr. 6 ist die Abweichung noch gröfser. In den ersten Tagen senkt sich die junge Kultur muldenförmig in die Gelatine ein und faltet sich daselbst verschiedentlich. Schliefslich wächst die Randpartie mit konzentrischer Schichtung nach allen Seiten weiter. (Siehe Tafel III sowie Seite 180 und 343.)

Bei den obergärigen Brauereihefen treffen wir auch häufig kompakte, abgestumpfte Kegel an, wie bei den Unterhefen, die muldenförmige Vertiefung besitzt jedoch einen mehr oder weniger kräftigen Ringwulst, der durch einen mäfsig tiefen Graben von dem Tellerrand,

der flach abfällt, geschieden ist (183); feine radiäre Zeichnung mit konzentrischen Wellenzügen oder reiche Verzweigung der radiären Streifen (35) oder hieroglyphenähnliche Faltungen beleben (25) das Bild des Tellerrandes etwas.

Die obergärigen Brennerei- und Preßhefen breiten sich in der großen Mehrsahl flach tellerartig auf der Gelatine aus; in der Mitte bleibt jedoch eine in der Gelatine eingesenkt bleibende Mulde (Depression) bestehen. (Bei den untergärigen hat die unterste Stelle der Mulde in der Regel noch von der Gelatineoberfläche einen gewissen Abstand.) Vereinzelt finden wir, wie bei den Unterhefen, kegelförmige

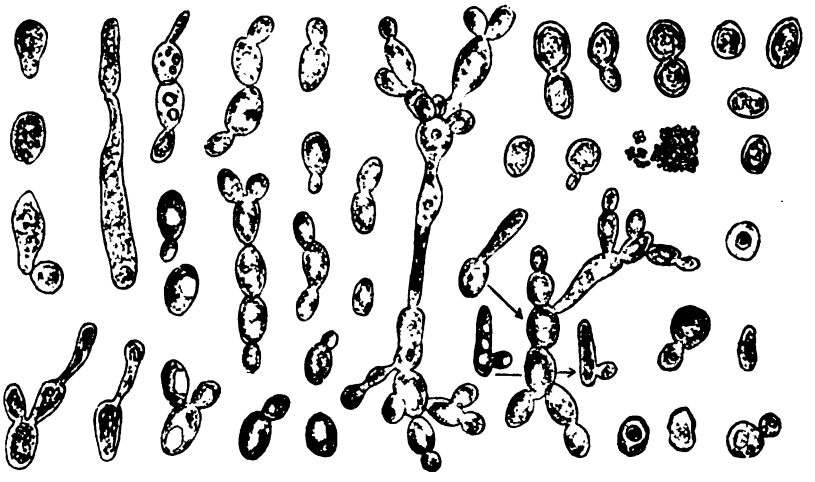


Abb. 169. Keimung von Zellen aus altem Bier in frischer Würze. Vergr. 600fach. Die beiden Vertikalreihen und von der dritten die oberste Gruppe stellen Zellen dar, die in zehn Monate altem Reinzuchtbier gefunden worden waren; die übrigen Zellen oder Zellgruppen der dritten bis siebenten Vertikalreihe sind der Nachwuchs von Zellen aus jenem Bodensatz in frischer Würze; die rechts oben befindliche Gruppe zeigt uns Zellen des nämlichen, aber mit Pediococcus infizierten Reinzuchtbieres, sämtliche Zellen waren abgestorben; die rechts unten befindliche Gruppe stellt Zellen einer Reinhefe dar (220b), die von einer viermonatlichen Kultur stammten und 40 Stunden in einem Vaselineinschlußpräparat gelegen hatten; die beiden Zellen, von denen Pfeile ausgehen, sind bei der Aussaat gezeichnet, die Spitzen weisen auf die nämlichen, aber erst nach 40 Stunden gezeichneten Zellen hin; die eine Pastorianus-ähnliche Zelle war inzwischen abgestorben.

Kolonien (130). Bemerkenswert ist im allgemeinen die stark hervortretende konzentrische Schichtung neben einer etwas schwächeren radiären Streifung. Zwischen den Radien und Kreisen bilden sich öfters Löcher, die sich in die Gelatine einsenken (86). 128 und 80 besitzen wieder wulstige Ränder, ähnlich wie die Unterhefe 142.

Die regelmäßige Ausbildung der Kolonien der Oberhefen wird häufig durch Gasblasen, die unter dem Hefenbelag entstehen, gestört. Die Ernährung von der Gelatine aus hört natürlich an solchen Stellen auf. Bei niederer Temperatur, ca. 10—12° C., gewachsene Kolonien zeigen oft eine fein gekröseartige Ausfüllung der muldenförmigen Vertiefung, die Ähnlichkeit hat mit den gefalteten Hautbildungen der Kahmhefen.

Untergärige Bierhefen.

Die Keimungsbilder, welche wir bei der Untersuchung der untergärigen Brauereihefen in der Tröpfchenkultur erhalten, stimmen im allgemeinen mit den Bildern der ersten 3 Reihen in Abb. 167 Seite 345 überein.

Als allgemeine Regel können wir hier folgendes aufstellen. Die untergärigen Kulturhefen bilden im Würzetröpfchen nur selten gröfsere Sprofsverbände. Nach beendeter Vermehrung treten aber die einzelnen Zellen wieder zu mehr oder weniger grofsen Flocken zusammen. Die einzelnen Zellen wachsen fast sämtlich zur normalen Gröfse heran, und zeichnet sich infolgedessen das mikroskopische Bild durch eine gewisse Gleichmäfsigkeit aus. Das Zellenplasma ist von mehr oder weniger zahlreichen Körnchen besetzt; Zellen mit anscheinend homogenem Plasma sind aufserordentlich selten. Infolge der starken Rundung der einzelnen Zellen, sowie des körnigen Inhaltes ergiebt sich bei Betrachtung bei schwacher Vergröfserung ein schattenreiches Bild, das sich leicht von anderen Vegetationen, namentlich der wilden Hefen, unterscheiden läfst. Sporenbildung wurde in den Tröpfchenkulturen mit untergärigen Kulturhefen bisher niemals beobachtet. Was die Gestalt der Zellen anlangt, so zeigt die Hefe Saaz Nr. 6 eine kleine Abweichung insofern, als die Zellen der jungen Sprofsverbände zumeist etwas länglich gestreckt sind. Ist die Hefe Saaz aber längere Zeit in einem Betrieb geführt worden, dann giebt sie auch in der Tröpfchenkultur mehr normale Bilder.

In Bezug auf die Gärungserscheinungen, welche die Unterhefe geben, ist hervorzuheben, dafs sie in der Regel einen griesigen Bruch zeigen, indem viele Zellen zu gröfseren Flocken zusammentreten. Frische Würze nimmt den Zellen die Klebkraft und zerteilt die in der Anstellhefe vorhandenen Flocken, daher werden wir in den ersten Gärungsstadien die Zellen der untergärigen Hefe nur vereinzelt auftreten sehen. Im Verlauf der weiteren Gärung wird die Zellwand wieder klebrig, und die Flockenbildung stellt sich wieder ein.

Der Bestandteil der Würze, welcher die Flocken lockert, ist hauptsächlich die Maltose; andere Zuckerarten[1]) sowie Dextrin haben, wie Verfasser festgestellt hat, eine geringere schleimlösende Kraft (daher gerade die Malzbonbons bei Husten und Heiserkeit allgemein angewendet).

Mit dem Verschwinden der Maltose aus der Gärung ist das Lösungs- oder Lockerungsmittel für den Schleim nicht mehr vorhanden, die einander nahekommenden Zellen haften daher wieder aneinander.

---

[1]) Während zur Zerteilung der Flocken von 1 g gepreſster Bierhefe 10 ccm 10%iger Maltoselösung nötig waren, bedurfte es bei ebenso konzentrierten Lösungen von Dextrin 20, Rohrzucker 30, Milchzucker 70 ccm.

Die mehr oder minder grofse Klebrigkeit der Zellen bedingt offenbar auch gewisse Eigentümlichkeiten der Bodensatzgestaltung, von der wir Seite 211 bereits gesprochen haben.

Die untergärigen Kulturhefen geben im allgemeinen sehr festliegende, beim Schütteln zumeist nur in grofsen Klumpen sich abhebende Bodensätze.

Beobachten wir eine Gärflasche, in welcher bereits die Klärung sich einzustellen beginnt, etwas genauer, so sehen wir, wie von bestimmten

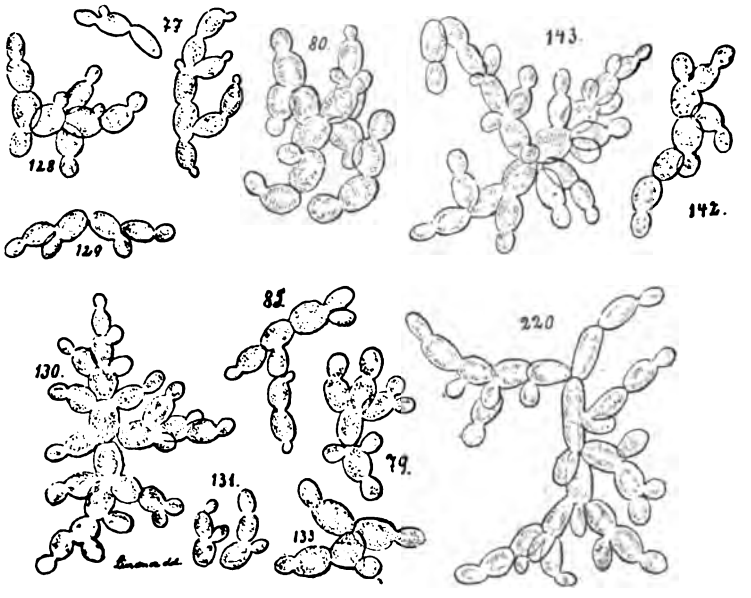


Abb. 170. Keimungsbilder von Kulturhefen aus Brauereien, Brennereien und Prefshefenfabriken. Vergröfserung 600fach.

128, 129, 130, 131 und 133 sind Brennereihefen. Die ersteren drei sind aus ein und derselben Maische isoliert worden; davon ist 128 (= Rasse II) stark vergärend, 129 fast gar nicht gärend (daher eigentlich nicht als Kulturhefe anzusprechen), 130 schwach vergärend vom Typus S.-O. — 77, 80, 85, 79 stammen aus Prefshefenfabriken. — 143 Obergärige Bierhefe aus sog. Werderschem Bier. — 142 ist eine untergärige Weizenbierhefe (beide, aus der Brauerei von Werm-Berlin stammend, wurden daselbst bei mittlerer Temperatur, ca. 15° C., fortlaufend geführt). — 220 ist eine untergärige Bierhefe aus der Versuchsbrauerei.

Stellen des Bodensatzes beständig kleine Kohlensäurebläschen entbunden werden.

Wird nun von diesen Bläschen etwas Hefe mit in die Höhe gerissen, dann lagert sich dieselbe später beim Niederfallen rings um die Eruptionsstelle wieder ab. Überall, wo wir Vertiefungen in der Oberfläche bemerken, hat die Entbindung von Kohlensäurebläschen stattgefunden. Die aus dem kleinen Krater emporgeschleuderten Massen lagern sich nun sehr verschieden wieder auf. Am interessantesten sind diese Ablagerungen bei der Hefe 51; hier sind ganze Eruptionskegel gebildet, die wie Schornsteine in die Flüssigkeit hinaufragen und 0,5—1 cm

hoch werden können. Bei wiederholten Gärungen mit derselben Hefe treten solche Gebilde annähernd in derselben Häufigkeit auf. Hefe 2 bildet dagegen stets sehr viel Ringwülste, dieselben sind aber von kleinerem Umfang. Die Hefe 5 bildete weniger, aber um so kräftigere Gebilde derselben Art.

Die eigenartigen Bodensatzbildungen können bei derselben Hefe aber auch wieder variieren, wenn die Hefe unter verschiedenen Bedingungen kultiviert wird. Bezüglich der Hefe 51 ist zu bemerken, dafs nach 6jähriger Kultur auf Gelatine die Erscheinung der Kraterbildungen noch ebenso wie früher in der Gärung sich einstellte. Dasselbe gilt von der anderen Eigentümlichkeit dieser Hefe, sich am Boden so aufserordentlich fest abzusetzen, dafs man durch Schütteln kaum ein Zerteilen des Bodensatzes bewirken kann.

Raymann und Kruis haben festgestellt, dafs der von den Brauereihefen unter den Verhältnissen der Praxis produzierte Alkohol nur Äthylalkohol ist.

C. J. Lintner ist der Ansicht, dafs höhere Alkohole sich namentbei der Selbstgärung bilden dürften, was durch die dabei auftretenden Fruchtäthergerüche — nach Erdbeer, Äpfel, Ananas — angezeigt wird.

Die Hautbildung bei untergärigen Bierhefen.

Bei der Reinkultur der untergärigen Hefe im Laboratorium begegnen wir auch einer Kahmhautbildung auf der Oberfläche der vergorenen Würze. Diese Erscheinung kommt im Betriebe uns niemals zu Gesicht, weil hier die Temperatur zu niedrig gehalten wird und die Zeit der Hauptgärung zu kurz ist. Trotzdem können sich hier jene Zellelemente gelegentlich zeigen, die in den Hautbildungen im Laboratorium besonders charakteristisch sind. Es ist das Verdienst Wills, durch mühsame Beobachtungen uns diese schwierig zu entziffernden Verhältnisse klargelegt zu haben. Wir kommen im nachstehenden hauptsächlich auf seine Forschungen zurück.

Die Hautbildung tritt bei den untergärigen Hefen im allgemeinen sehr spät ein und ist wenig ausgiebig, namentlich dann, wenn nur geringe Kräusenausscheidungen auf der Würzeoberfläche verbleiben. An solchen hat nämlich die Hefezelle einen Halt, der sie vor dem Untersinken bewahrt.

Eine so festgehaltene Zelle erzeugt Tochterzellen, die anfangs der Mutterzelle noch vollständig gleichen; später hervorsprossende nehmen jedoch eine andere Beschaffenheit an; sie sind kleiner (8—9 μ), ihre Membran ist derber und der Inhalt reich an Öltröpfchen. Die Vakuolen sind nur sehr klein oder fehlen ganz. Glykogen ist reichlich vorhanden.

Die Öltröpfchen lösen sich leicht in Alkohol und geben mit konzentrierter Schwefelsäure im Gegensatz zu den schwer löslichen Fett-

tröpfchen der Bodensatzhefe, welche ungefärbt bleiben, eine graugrüne und zuletzt schwarzbraune Färbung.

Durch diese Färbung kann die Gegenwart von Hautzellen in der Bodensatzhefe nachgewiesen werden.

Aus den festgehaltenen Zellen sind inzwischen kleine Hefeklümpchen von unregelmäfsiger Form und ziemlich trockner Beschaffenheit entstanden.

Diese Hefeklümpchen werden jedoch allmählich schleimig. Das Mikroskop zeigt uns alsdann eigenartige Wachstumsbilder, die ganz anders sind als die von der Bodensatzhefe. Man sieht nämlich die Zellen des noch trocknen Hefeklümpchens in lebhafte Sprossung übergehen — so zwar, dafs die Mutterzelle ringsherum neue kleinere Tochterzellen ansetzt, die wiederum aussprossen, während sie mit jener noch verbunden sind. Unter ihren Nachkommen ist die Mutterzelle nicht blofs durch ihre Gröfse und centrale Stellung, sondern auch durch die dickere Membran deutlich gekennzeichnet.

Die so reichlich entstandenen Tochterzellen besitzen nämlich eine sehr zarte Zellwand; der Inhalt ist fast homogen bis auf wenige kleine Fetttröpfchen und scheinbar frei von Vakuolen.

Die kleinen Zellen (meist 6—7 μ im Durchmesser, oder wenn wurstförmig 9—10 μ lang) sind die erste Generation der echten Hautzellen. Aus den Hefeklümpchen sind inzwischen Hefeinseln geworden, die allmählich sich zu einer kontinuierlichen gelblich-weifsen, schleimigen Haut zusammenschieben, welche infolge ihrer ungleichen Dichte ein marmoriertes Aussehen annimmt.

Ebenso wie in der Kahmhaut gehen morphologische Veränderungen in dem Hefenring vor sich, nur dafs hier am oberen Rand desselben sich reichlicher jene dickwandigen, grofsen, ausdauernden Zellen bilden, die Will durch die Bezeichnung „Dauerzellen" charakterisiert hat. Sie sind reich an Öltropfen und Glykogen und keimen gewöhnlich in langen mycelialen Sprofsverbänden aus, die dann die zweite Generation der Kahmhautzellen darstellen, und für die das häufige Auftreten von Querwänden charakteristisch ist.

Sämtliche Kahmhautzellen üben durch eine energische Sauerstoffübertragung eine viel energischere Veränderung auf die vergorene Flüssigkeit aus, als die Bodensatzhefen.

Bei der Kahmhautbildung der untergärigen Bierhefe entsteht also eine von der Bodensatzhefe morphologisch verschiedene, selbständige Generation der Hefe und nicht blofs eine durch äufsere Verhältnisse herbeigeführte vorübergehende Formveränderung der Hefezellen.

Vielleicht spielt sich die Reifung des Bieres im Lagerkeller wesentlich unter dem Einfluls solcher Kahmhautzellen ab.

Das beste Reagens auf das Vorhandensein von solchen Kahmhautzellen ist Biergelatine, in welcher sie zumeist unregelmäfsig wachsende Kolonien (vom Typus II u. III, vgl. nächstes Kapitel) bilden. Wenn regelmäfsige Kolonien hin und wieder auftauchen, so wachsen doch diese schon nach 4 bis 5 Tagen am Rande aus, was bei den Kolonien aus Zellen der Bodensatzhefe (Alkoholgärungsform) erst nach 7—13 Tagen eintritt.

Der Übergang von Kahmhautzellen in letztere Form vollzieht sich am leichtesten in zuckerreicher Bierwürze, wie umgekehrt die Bodensatzform in stark vergorenem Bier leicht die Kahmhautgeneration bildet.

Je mehr die Zellen der Kahmhautgeneration gefestigt sind, um so zeitiger sind sie im stande, in frische Würze eingeimpft, wieder eine Haut zu bilden und um so schwieriger lassen sie sich zur Sporenbildung bringen; ja manchmal bedarf es einer gröfseren Anzahl Überimpfungen (20 und mehr) in frische Würze, ehe überhaupt Anzeichen derselben auftreten.

Späte Hautbildung, reichliche Sporenbildung charakterisieren die Alkoholgärungsform.

Wachstum der Zwergkolonien in dünner Würze-, beziehungsweise Biergelatineschicht.

Die in dünner Würzegelatineschicht sich entwickelnden Einzellkulturen zeigen verschiedenen Wachtumsbilder. Bald zeigen die Kolonien die „Maulbeerform“ (Typus I), bald das Bild einer „platzenden Bombe“ (Typus II), bald ein ganz unregelmäfsiges Auswachsen (Typus III).

Bei Aussaat von Zellen aus einer älteren Kahmhaut bekommt man gewöhnlich alle 3 Typen zu sehen, bei Aussaat von Bodensatzhefe fast nur den Typus I.

Sobald man durch häufiges Überimpfen jede Kahmhautbildung verhütet, zeigen sich fast nur regelmäfsige Kolonien (Maulbeerform); will man sich überzeugen, ob eine Generation der Hefe schon gefestigt ist, so säet man sie am besten in Biergelatine aus; bildet sie hier nur die Maulbeerform aus, dann ist die Alkoholgärungsform vorhanden und in hohem Grade gefestigt.

Will glaubt, dafs das Auswachsen der Kolonien das Analogon zu der Kahmhautbildung in Flüssigkeiten ist. Beim Auswachsen der Kolonien können zwei Phasen deutlich unterschieden werden; bei der ersten treten nur ovale oder rundliche, bei der zweiten wurstförmige oder mycelförmige, überhaupt gestreckte Zellen auf.

Diejenigen Hefen, welche sehr leicht Kahmhautgenerationen entwickeln, wachsen auf der Würze- und Biergelatine meist sehr zeitig und leicht aus. Die erste Phase des Auswachsens dürfte der Entwicklung der Kahmhautzellen 1. Generation, die zweite derjenigen der Entwicklung der Kahmhautzellen 2. Generation entsprechen.

Die Kahmhautzellen 2. Generation bilden mycelartige Formen aus, die in Biergelatine und Würzegelatine unregelmäfsige Kolonien mit ausgebreiteten Sprofsverbänden von langgestreckten wurstförmigen, seltener ovalen Zellen bilden.

Durch wiederholte Überimpfungen von Kahmhautzellen 2. Generation in Würze gelangt man schliefslich wieder zur Alkoholgärungsform mit regelmäfsigem Wachstum.

Die aus Dauerzellen hervorgegangenen Kolonien wachsen nach allen 3 Typen; in der Regel entstehen sehr frühzeitig Sprofsverbände wurstförmiger und mycelfadenartiger Zellen, selbst bei anfangs regelmäfsig wachsenden Kolonien.

Aus den vorstehenden Darlegungen ergiebt sich, dafs man bei Versuchen über die Variation der Hefen sich zunächst mit den Generationen der verschiedenen Hefenarten vertraut gemacht haben mufs, wenn man nicht Gefahr laufen will, falsche Schlüsse zu ziehen.

Als weiteres allgemeines Charakteristikum der untergärigen Kulturhefen ist zu erwähnen: ihre verhältnismäfsige geringe Neigung zur Sporenbildung. Die Sporenbildung beginnt fast durchweg erst nach 30—40 Stunden, bei einigen Rassen erst 4—5 Tage nach der Aussaat auf dem Gipsblock bei einer Temperatur von 25° C. Die Zahl der sporenbildenden Zellen ist hier meist eine beschränkte; häufig genug kommt es vor, dafs auf 1000 oder 10000 Zellen erst eine sporenbildende kommt. Die Sporenbildung kann auch ganz ausbleiben. Lange Zeit auf Würzegelatine gezüchtete Hefen sind zumeist sehr schwer zur Sporenbildung zu bringen. Die Sporen zeigen gewöhnlich einen körnigen Inhalt.

Nachstehende Tabelle giebt für fünf von Will näher untersuchte Unterhefen die Zeit an, nach welcher die ersten Sporenansätze erscheinen:

	Temperatur ° C.	Zeit Stunden	Temperatur ° C.	Zeit Stunden
1.	24—25	31	19—20	50
2.	24—25	32	19—20	56
3.	25	31	19—20	47
4.	25	40	19—20	52
5. Carlsberger Rasse I.	25	5 Tage	—	—

Hansen hat aus haut- und sporenbildenden Hefen Rassen gezüchtet, die in den letzten 12 Jahren niemals wieder eine Sporenbildung und Hautbildung gezeigt haben. Auch die Anwendung vielseitigster Kulturbedingungen hat hier keinen Erfolg gegeben.

Am leichtesten sind asporogene Rassen zu erhalten durch wiederholte Züchtungen in Würze bei Temperaturen, die eben noch ein Wachstum gestatten.

Abb. 171. Untergärige Hefe von einem Gipsblock, in verschiedenen Stadien der Sporenbildung. Die stark schattierten Kugeln der mittleren Vertikalreihen sind Fetttröpfchen.

Die obergärigen Brauereihefen.

Keimungsbilder. In den Tröpfchenkulturen entstehen ebenfalls schattenreiche Bilder, da die Zellen wie bei den untergärigen Kulturhefen körnigen Inhalt aufweisen und bei normaler Gröfse volle Rundung zeigen. Unterschiede von den letzteren kommen zum Teil dadurch zu stande, dafs die Sprofsverbände aufserordentlich üppig angelegt werden und vielfach längere Dauer haben. Es giebt jedoch auch hier alle mög-

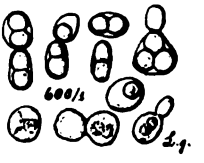


Abb. 172.
Sporenbildung bei einer obergärigen Hefe aus Grätzer Bier.

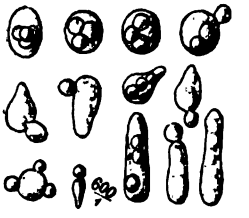


Abb. 173.
Sporenbildung einer Hefe aus Breslauer Weizenbier.

lichen Abstufungen, so dafs sich eine scharfe Grenze nicht ziehen läfst (vgl. Seite 351, Abb. 170, Hefe 143, 142). Bei den Hefen mit den grofsen Sprofsverbänden nehmen die Zellen oft ein birnenförmiges Aussehen an (vgl. Seite 182, Abb. 102 B). Wenn man die jungen Sprofsverbände obergäriger Hefen, wie sie in den Tröpfchenkulturen zur Beobachtung kommen, mit solchen von untergärigen Kulturhefen vergleicht, so kann man nicht selten folgende Unterschiede feststellen: Die Sprofsäste der ersteren wachsen zunächst in fast gerader Richtung aus, als ob die einzelnen Zellen auf einen Draht aufgespiefst worden wären. Wenn mehrere Sprofsverbände von der Mutterzelle ausgehen, dann fallen sie fast in dieselbe Ebene resp. in eine Fläche, die der Oberfläche des Tropfens annähernd parallel ist. Die Sprofsäste der untergärigen Hefen orientieren sich nicht in demselben Sinne, auch besitzen sie nicht ein so

steifes Rückgrat, es ist hier vielmehr, als wenn in den Ästen die einzelnen Zellen gleichsam in Gelenken drehbar wären.

Die Sporenbildung ist bei der Mehrzahl der obergärigen Arten eine aufserordentlich üppige. Schon nach 20 Stunden bei 25° C. finden wir auf dem Gipsblock Ansätze dazu vor, nur einzelne Rassen bilden wie die untergärigen sehr spät Sporen. Der Prozentsatz der sporenbildenden Zellen steigt zumeist auf 50—90. Die Sporen erscheinen fast durchweg homogen und stark glänzend. In Tröpfchenkulturen bilden sich

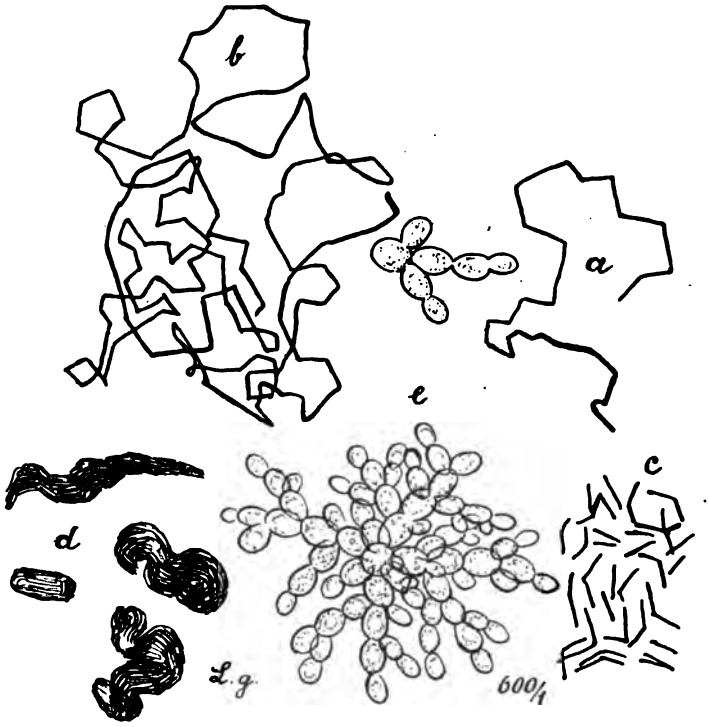


Abb. 174. Keimungsbilder einer Berliner Weifsbierhefe e und des Milchsäurebacillus a. (b ist 24 Stunden später als a gezeichnet, von dem es abstammt.) c ist das Zerfallsstadium von b. d zeigt die Kolonienbildung des Bacillus in Würzegelatine.

hin und wieder auch Sporen. Hansen ist es bei der obergärigen S. errevisiae I gelungen, zeitweise vollkommen asporogene Rassen zu züchten.

Die Bodensätze sind gewöhnlich sehr wellig ausgebildet, wie Abb. 104, Hefe 35, Seite 211 erkennen läfst, die eine Weifsbierhefe aus einer Berliner Brauerei darstellt.

Die Flockenbildung betreffend ist schon bemerkt worden, dafs die Flocken infolge einer nur geringen Klebkraft der Zellwände nur geringe Dimensionen annehmen und von geringer Beständigkeit im Wasser sind als bei der untergärigen Hefe.

Die Gärungen verlaufen stürmischer als bei den Unterhefen, und die Hefenernte ist durchschnittlich viel gröfser. Über das Verhalten gegenüber verschiedenen Zuckerarten vgl. S. 344. — Die Biere schmecken vielfach milder, hefiger und weniger bitter als von Unterhefen; jedoch kommen auch Rassen vor, die einen sehr rauchigen Geschmack dem Biere erteilen. Obergärige Rassen vom Typus S.-O. kommen auch vor. Die Hautbildung tritt verhältnismäfsig zeitig ein gegenüber den Unterhefen, auch sind die Häute stärker entwickelt.

Morris, ebenso van Laer haben die Erfahrung gemacht, dafs nicht immer mit reingezüchteten Obergärungshefen eine Nachgärung ordentlich durchgeführt werden könne; dafs es vielmehr hierzu noch der Mitwirkung anderer (eventuell wilder Hefen) bedürfe.

Die Gärversuche des Verf. haben hier einige Aufklärung gebracht. Eine Guiness-Porterhefe (Nr. 538), welche aus der Hauptgärung stammte und isoliert worden war, zeigte sich gegen Dextrin völlig indifferent, während zwei andere Hefen aus Guiness-Porter, die aus dem Bodensatz der Flasche isoliert wurden, auf Dextrin sehr deutlich reagierten (Nr. 539 und 540). Hier wird die Dextrinvergärung während der Nachgärung offenbar durch die letzteren wilden Hefen bedingt worden sein.

Andrerseits hat Verf. unter den obergärigen Brauereihefen eine reichliche Anzahl gefunden, die Dextrin kräftig angreifen, z. B. Berliner Weifsbierhefe Nr. 488, 35, ferner andere obergärige Hefen wie 404, 157, 393, 330, 403, 159, 155 u. a. Ja sogar obergärige Hefen vom Typus Saaz (S.-O) haben Dextrin angegriffen: 160, 150, 403, 159.

(Hefe 457, auch eine Saazhefe, vergor Dextrin aber nicht.)

Wenn Effront von einer Gewöhnung von Bierhefen an Dextrinvergärung spricht, wird es sich jedenfalls nur um solche Hefen handeln können, die an und für sich Dextrin angreifen, wenn auch schwach. Solche, die es nicht thun, werden wohl nicht dazu zu bringen sein.

Bei einer Betriebshefe werden immer verschiedene Rassen zugleich vorhanden sein, und es ist leicht denkbar, dafs bei Effronts-Gewöhnungsversuchen die dextrinvergärenden vor den anderen zur Vermehrung kommen. Wie Effront vorgeht, möge kurz hier angedeutet werden.

Effronts Methode, Bierhefe zur Dextrinvergärung zu erziehen.

Nährlösung: 10 Liter 15%ige Zuckerlösung, 5 g Hefenasche, 4 g salpetersaures Kali, 2 g Formaldehyd.

Nach Sterilisation und Abkühlung Zugabe von 150 g Reinhefe.

Gärtemperatur 25° C. Wenn die Hälfte des Zuckers vergoren, wird die Hefe abfiltriert und 150 g davon in eine ebensolche frische Nährlösung gebracht. 40—50 mal wird so verfahren, jedoch steigert man allmählich die Nitratmenge auf 50 g und die Aldehydmenge auf 40 g.

Nun die zweite Phase: Angewöhnung an steigende Dextrinmengen bei gleichzeitiger Verminderung der Zuckergabe.

Zu 6 Liter Wasser von 70° C. 1,5 kg Stärke und ein Malzaufguſs aus 15 g Trockenmalz. 1 Stunde bei 68°. Dann Zugabe von 4 Liter einer 15%igen Zuckerlösung mit 5 g Hefenasche, 50 g Nitrat. Nach der Sterilisation Zugabe von 40 g Aldehyd und 150 g der vorher gezüchteten Hefe. 24 Stunden gären lassen.

Nun 4 Liter aus dieser Gärung zu 7 Liter ebensolcher frischer Maische. 24 Stunden gären lassen.

Nun die gleichen Wiederholungen, wobei man jedoch die Zuckerlösung immer mehr verringert und die Menge der Dextrinmaische steigert, bis schlieſslich nur noch 10 Liter Dextrinmaische zur Vergärung kommen.

Nun 10 Liter vergorene Maische zu 40 Liter frischer; sobald diese gären, werden sie zu 160 Liter neuer Maische gegeben. Die Hefe durch Filtration jetzt gewonnen.

1½—3 kg Hefe giebt man auf 100 Liter Kartoffel- oder Getreidemaische und läſst 24 Stunden gären, nimmt 25 Liter als Mutterhefe ab und stellt damit 100 Liter frische Maische an, während man mit den 75 Litern 2500 Liter dextrinhaltige Maische zur Vergärung bringt.

Das so erhaltene Hefengut besitzt ein diastatisches Wirkungsvermögen von 30—40 Tagen; es empfiehlt sich jedoch, alle 2—3 Wochen die Mutterhefe zu wechseln.

Die zur Vergärung bestimmte Maische bereitet man in derselben Weise, wie die zur Herstellung der Hefe dienende, d. h. die gekochten Materialien werden unter Zusatz von 1—2% Malz bei 65—70° verflüssigt.

Die Hefen der Brennereien und Preſshefenfabriken schlieſsen sich in ihren Eigenschaften eng an die vorige Gruppe an, sind jedoch besser für ein Säure- und Alkoholklima angepaſst.

In den Tröpfchenkulturen finden wir dieselben Bilder vor, doch ist die frühzeitige Lockerung der Sproſsverbände schon häufiger anzutreffen, ohne daſs hier jedoch eine spätere Verklebung der Zellen zu gröſseren Flocken stattfindet, wie bei der Unterhefe.

In älteren Tröpfchenkulturen habe ich von einigen Preſshefen wunderbare Sproſsbäumchen erhalten, die an einzelnen Stellen sogar in die Vaseline hineinwuchsen.

Die Bodensätze liegen nicht besonders fest, sondern lassen sich leicht aufwirbeln, wobei sich die Hefe staubig in der Flüssigkeit verteilt.

Dieselbe Erscheinung zeigt sich auch beim Schütteln der Hefe mit Wasser.

Es ist oft möglich, unter Beachtung dieses Verhaltens den Nachweis zu führen, ob eine Brennerei- oder Preſshefe mit flockiger Hefe (die frischen Betriebshefen untergäriger Brauereien sind immer flockig) vermischt ist. Zeigt sich die Flockenbildung nicht ohne weiteres und vermutet man doch die Gegenwart derartiger Hefen, dann wird man zweckmäſsig die Tropfenkultur in der Petrischale in Anwendung bringen. Dabei wird man vorher die Hefe so stark mit Würze vermischen, daſs noch nicht jeder Tropfen eine Zelle als Aussaat erhält.

Bei geringen Erschütterungen wird das Zusammenballen der Zellen zu gröſseren Flocken überall dort eintreten, wo eine Zelle einer flockigen Hefe zur Aussaat gekommen ist. Wir werden fast quantitativ genau die Menge der Beimischung von Flockenhefe zu der nicht flockigen feststellen können.

Sollte uns die Tropfenkultur noch nicht genügend sichere Auskunft geben, dann steht uns noch der Weg offen, durch Überimpfungen der

Abb. 175.
Mit Kahmhefe (a und e) und Essigsäure (d) infizierte Preſshefe (b).
c und f Milchsäurebakterien.

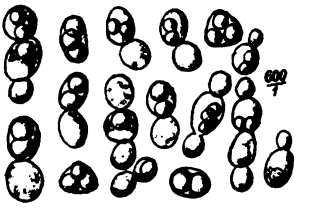


Abb. 176.
Sporenbilder von einer Betriebspreſshefe.

einzelnen Tropfen in eine Reihe Würzefläschchen die Gärform genauer zu studieren. Die obergärige Hefe wird, namentlich in ungehopfter oder schwach gehopfter Würze, sogleich oder spätestens nach mehrfachen Überimpfungen in gröſsere Würzemengen einen Teil der Hefe nach oben werfen. Eine untergärige Hefe ist erfahrungsmäſsig dazu nur ganz ausnahmsweise zu bringen. Empfehlenswert sind für diesen Versuch schmale Gärflaschen, event. auch Reagenzgläschen.

Die Frage, ob Unterhefe einer Oberhefe beigemischt ist, wurde bisher nach Bau mit Hilfe von Melitrioselösungen entschieden.

Man wird diese Methode zur Orientierung noch weiter beibehalten können, wenn man auch den Befund nicht als absolut sicheren Beweis für oder gegen eine Beimischung von Unterhefe ansehen darf. Bei Gegenwart von Unterhefe wird die Melitriose zumeist vollständig vergoren (vgl. Seite 344).

Die Prüfung der Preſshefe auf eine Beimengung von Unterhefe kann also noch in folgender Weise vorgenommen werden:

a) Vorprüfung. Methode nach Herzfeld.

10 ccm 1%iger Melitrioselösung werden mit 1 g Hefe gut gemischt, in das Einhornsche Gärungssaccharometer ohne Luftblasen eingefüllt und, durch einige Tropfen Quecksilber im offenen Schenkel abgesperrt, bei 30° C. 24 Stunden lang aufbewahrt. Die gleiche Probe wird mit abgekochtem Wasser an Stelle der Melitrioselösung durchgeführt und die hierbei entwickelte Kohlensäure von der dort entwickelten in Abzug gebracht. Ergiebt die Differenz in einem Saccharometer, welches 5 ccm umfaſst, 2 bis höchstens 2½ ccm, dann ist die Preſshefe als rein oder nahezu rein aufzufassen. Ist der Unterschied gröſser, dann treten Zweifel auf, ob die untersuchte Hefe rein, eventuell Lufthefe oder mit Unterhefe gefälscht war. In letzterem Falle muſs die Methode von Bau angewandt werden. Bei 4,5 ccm und darüber ist dagegen der Nachweis einer Mischung mit Unterhefe als erbracht anzusehen.

Nimmt man ein Gärungssaccharometer, dessen geschlossener Schenkel 7 ccm faſst, so ist die Hefe bei einer Entwicklung von 3—3,5 ccm Kohlensäure als rein zu betrachten, vorausgesetzt, daſs sie nicht bereits durch längere Aufbewahrung oder den Transport geschwächt ist.

b) Hauptprüfung nach Bau.

Je 10 ccm der 1%igen Melitrioselösungen werden mit 0,4 g der zu untersuchenden Hefe in Reagenzgläschen eingefüllt und letztere mit Watte verschlossen. Drei Reagenzgläschen, ebenso beschickt, werden bei 30° C. aufbewahrt. Nach 1, 2, 3mal 24 Stunden nimmt man je ein Gläschen, filtriert und versetzt 3 ccm des Filtrats mit 1 ccm Fehlingscher Lösung, welche kurz vor dem Gebrauch gemischt war. Im Reischauerschen Stern wird nun 5 Minuten lang erhitzt.

Ist die Flüssigkeit über dem Niederschlag des ersten Röhrchens, welches 24 Stunden bei 30° C. gestanden hatte, blau, so war die Hefe sicher mit über 10% Unterhefe verfälscht. Ist das Gleiche nach 48 Stunden der Fall, dann können wir auf eine Beimischung von 5%, nach 72 Stunden auf ca. 1% und darüber schlieſsen.

Zeigt dagegen die Lösung nach 72 Stunden eine gelbe oder braungelbe Farbe, so ist damit der Beweis geliefert, daſs die Hefe — Preſshefe oder Lufthefe — vollständig frei von Unterhefe ist.

In Bezug auf Sporenbildung herrscht eine groſse Übereinstimmung mit den obergärigen Brauereihefen. Nach 20 Stunden sind bei der Mehrzahl der Arten Sporen auf dem Gipsblock nachzuweisen. In den Tröpfchenkulturen werden mitunter ebenfalls Sporen ausgebildet. Es giebt aber auch Arten, die sehr schwer Sporen bilden. Die Bodensätze der Brennerei- und Preſshefen zeigen keine besonderen Eigentümlichkeiten. Sie sind zumeist scharf abgesetzt und frei von Unebenheiten (siehe in Abb. 104, Seite 211 den Bodensatz der Brennereihefe 132).

Die Klärung der Würze erfolgt ziemlich langsam.

Sehr groſse Unterschiede zeigt das mikroskopische Bild der einzelnen Rassen während der Gärung. Einzelne Brennereihefen, namentlich die-

jenigen, welche die Gärung energisch einleiten, sterben sehr schnell ab; am Ende der Gärung sehen fast sämtliche Zellen matt, geschwächt aus; andere Rassen dagegen behalten aufserordentlich lange ein völlig gesundes Aussehen (z. B. Hefe 80, aus einer Rostocker Prefshefenfabrik); es scheinen diese Rassen auch derbere Zellmembran zu besitzen. — Von den Rassen, welche im grofsen für Brennereien in Reinzucht genommen worden sind, hat sich die Hefe 128, die als Rasse II seit Jahren in Deutschland Verbreitung gefunden hat, für die deutschen Verhältnisse am meisten bewährt. Sie stammt aus einer Brennerei in Gronowo (Provinz Westpreufsen), die ihre Anstellhefe aus einer Prefshefenfabrik in Thorn bezogen hatte, und ist im Jahre 1889 vom Verfasser isoliert worden. Bevor sie zur Kultur im grofsen herangezogen wurde, hat sie mehrere Jahre ihr Dasein auf gehopfter Würzegelatine in der Sammlung gefristet. Um zu zeigen, wie verschieden die Hefevegetation in einer Brennereimaische sein kann, möge hier erwähnt werden, dafs aus der-

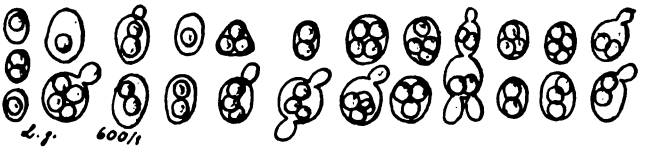


Abb. 177. Sporenbilder von neun verschiedenen Reinkulturen von Prefshefen.

selben Maische, aus der Hefe 128 erhalten wurde, auch die Hefen 129 und 130 isoliert werden konnten.

Aus der Tabelle II ist ersichtlich, dafs 128 stark, 130 schwach vergärend (vom Typus S.-O.) ist. Die Hefe 129 ist gar nicht in der Tabelle aufgeführt, sie ist gleichzeitig mit jenen Hefen angesetzt worden, hat aber in den ersten 5—6 Tagen überhaupt keine Gärung gezeigt, obwohl sie sich sonst ziemlich kräftig entwickelt hat. Von dieser Hefe ist es nicht gelungen, Sporen zu erhalten. 77 (Rasse IV) ist eine Prefshefe aus Bayern, 80 eine solche aus Rostock (Rasse I), 79 eine solche aus Schlesien, 85 aus Baden. 131 und 133 sind Brennereihefen.

Im grofsen gezüchtet wird jetzt auch Rasse V für Prefshefefabriken.

Effront hat gezeigt, dafs Hefen an grofse Mengen Fluorsalze (von 10 mg an, die sie gewöhnlich ohne weiteres vertragen, bis 300 mg im Liter) gewöhnt werden können, die sie vorher sofort gärungsunfähig gemacht hätten. Allerdings büfsen sie bei dieser Behandlung an Vermehrungsfähigkeit ein, jedoch steigert sich ihr Gärvermögen, und die Gärprodukte werden reiner, indem Glycerin und Bernsteinsäure in um $^1/_{12}$ geringerer Menge gebildet werden, als in der gewöhnlichen Gärung. Dementsprechend bildet sich auch mehr Alkohol. Effront fand, dafs diese Produkte nicht immer in dem gleichem Verhältnis auftreten, dafs dieses vielmehr nach gewissen Bedingungen und je nach dem Zeitpunkt

bei der Gärung wechselt. Die gröfsten Mengen Glycerin und Bernsteinsäure bildeten sich zwischen 72—96 Stunden nach Beginn der Gärung, also wenn das Gärvermögen der Hefe infolge Mangels an Nährstoffen bereits erschöpft war. Solange die Fluorsalze das Gärvermögen der Hefe kräftigen, bilden sich auch die Nebenprodukte nicht in grofser Menge. Erst am Schluſs der Gärung ändert sich die Sachlage.

Wie an Flufssäure, können die Hefen auch an andere Säuren allmählich gewöhnt werden, z. B. Salzsäure, schweflige Säure, Milchsäure.

Rothenbach hat hierbei folgende Beobachtungen an der Rasse II gemacht:

Bei Salzsäure wird die Zellform am wenigsten verändert; bei Flufssäure werden die Zellen in der Gärung kleiner und nehmen ein auffallend körniges Plasma an; bei schwefliger Säure schwellen die Zellen stark an; die Membran scheint stark gespannt zu sein.

Die Angärung ist bei Flufssäure am schlechtesten, bei Salzsäure am besten, bei Milchsäure ähnlich wie bei Salzsäure.

Mit Formalin versetzte Salzsäure ruft etwas an S. apiculatus erinnernde Formen, namentlich bei der ersten Gewöhnung hervor. —

Im Gegensatz zu den von ihnen untersuchten Brauereihefen fanden Raymann und Kruis bei Brennereihefen unter den Gärungsprodukten aufser dem Äthylalkohol noch Amylalkohol und Acetaldehyd vor.

Die wilden Hefen.

Während wir bei Luftuntersuchungen in der freien Natur selten Kulturhefen einfangen, gelingt uns dies bezüglich der wilden Hefen ziemlich häufig, namentlich zur Zeit der Fruchtreife und der Bodenbearbeitung. Die süfsen Früchte auf den Bäumen und Sträuchern, sowie die zuckerhaltigen Feldfrüchte im Boden sind günstige Ansiedelungsorte für die allenthalben in der Luft, im Wasser und in der Erde vorhandenen Keime der wilden Hefen. Eine besondere Vermehrung erfahren diese an den Stellen, wo die betreffende Frucht infolge von Rissen oder sonstigen Verletzungen den Saft frei zu Tage treten läfst. Zeitweise Regengüsse sorgen dafür, dafs die ersten Schmarotzer entfernt werden und einer neuen Generation Platz machen. Die heruntergespülten Keime verbringen die Winterzeit im Erdboden. Hansen hat hierüber sehr schöne Untersuchungen angestellt. Er hat auch gezeigt, dafs dieses Vegetieren im Boden oft gewisse Eigenschaften, welche die Hefe durch bestimmte Kulturverhältnisse verloren hatte, wieder erweckt, z. B. die Sporenbildung.

Infolge der weiten Verbreitung, die die wilden Hefen in der Natur haben, gelangen sie auch oft genug in die Gärungsbetriebe. Wir finden sie bald in der Luft, auf den Kühlschiffen, auf dem Getreide und Malz,

bald im Wasser, in den Leitungen, in den Gefäfsen, Schläuchen und schliefslich auch in den Würzen und Maischen, sowie im Bier.

In Betrieben, die es an der nötigen Reinheit fehlen lassen, können anfänglich geringfügige Infektionen dieser Art aufserordentlich gefährlich werden; finden doch die wenigen Keime Zeit und Nahrung genug, um zahlreiche Nachkommen zu bilden. Wenn auch nicht alle Zellen kräftig ernährt sind, z. B. die an den feuchten Wandungen der Gefäfse und Leitungen entstandenen, in der Würze oder Maische holen sie dies sehr schnell nach.

In den Brennereien, die mit höheren Temperaturen arbeiten, und wo die Kulturhefe kaum zur Ruhe kommt, ist die wilde Hefe fast eine Seltenheit. Man kennt die wilde Flora der obergärigen Betriebe nur wenig, weil sie eben bisher keinen gröfseren Einfluſs geltend gemacht hat.

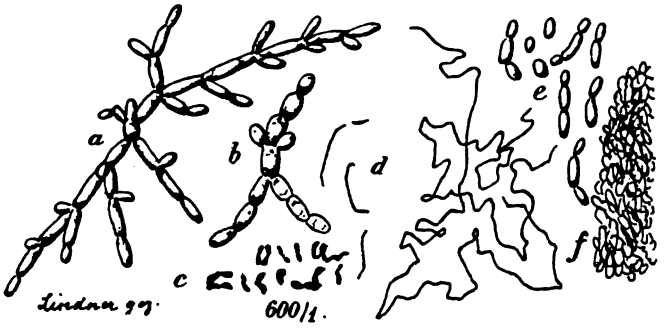


Abb. 178. Vegetation aus einer Gurkenlake (Tröpfchenkultur mit Würze).
a Rahmartige Hefe. b elliptische Hefe. c unbekanntes Bakterium. d Milchsäurebacillus.
e Pastorianus-artige Hefeformen. f dieselben im Haufen.

Wird Bier durch die wilden Hefen schädlich beeinfluſst, sei es in Bezug auf Haltbarkeit, unangenehmen Geschmack oder Geruch, dann spricht man von Krankheitshefen. Ob eine wilde Hefe als Krankheitshefe anzusprechen ist, kann man aus dem mikroskopischen Bild nicht ohne weiteres entnehmen. Selbst Hefen, von denen man weifs, dafs sie unter bestimmten Verhältnissen Biere krank gemacht haben, können unter anderen Bedingungen eine harmlose Rolle spielen.

Hansen ist es gelungen, aus dem S. Pastorianus I, der ein bitterschmeckendes Bier liefert, durch wiederholte Kulturen in der Nähe des Temperaturmaximums für das Wachstum eine Rasse zu züchten, welche nicht mehr mit diesen Eigenschaften behaftet war.

Viel spricht selbstverständlich auch das Mengenverhältnis mit, in dem sie der Kulturhefe beigemischt sind.

Ehe die Hauptgärung einsetzt, und wenn sie vorüber ist, die Kulturhefe also ihre Hauptarbeit verrichtet hat, ist für die wilden Hefen freier

Spielraum gegeben. Nahe an der Oberfläche oder in den Kräusen selbst finden die luftbedürftigen Arten günstige Fortpflanzungsbedingungen; in den tiefer gelegenen Schichten halten sich auch die weniger luftbedürftigen Hefearten, die eigentlichen Nachgärungshefen, noch unbeschadet auf. Infolge des Umstandes, dafs die wilde Hefe zumeist nicht flockt, flottiert sie während der Hauptgärung auf und nieder und hat dadurch reichlich Gelegenheit, die Sauerstoffreserve, die sie für ihre Arbeit im Lagerfafs braucht, sich anzueignen. Derselbe Umstand bewirkt auch, dafs sie im Lagerfafs sich nicht so schnell absetzt; sie befindet sich alsdann aufser Konkurrenz mit der normalen Hefe, die zum gröfsten Teil schon längst zu Boden gegangen ist.

Die wilden Hefen sind zum Teil für kältere Temperaturen besser angepafst, als die Kulturhefen. Verfasser fand sogar in einem leergestandenen Gärbottich (Temperatur ca. 6,5° C.) auf dem noch feuchten Boden in Unmasse Zellen einer wilden Hefe, von denen fast jede einzelne mehrere Sporen entwickelt hatte.

Die von Delbrück vorgeschlagene höhere Gärtemperatur hat fast immer zu einer Unterdrückung der wilden Hefe geführt resp. dieselbe nicht aufkommen lassen.

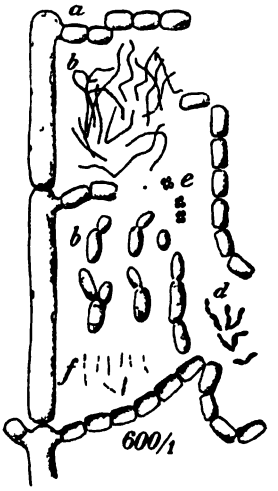


Abb. 179.
Aus einer Adhäsionskultur (Gurkenlake).
a Oidium lactis. b Milchsäurebakterien. e Pediococcus. d u. f unbekannte Bakterien.

Wenn auch die Kälte ein kräftiges Wachstum der wilden Hefe nicht gestattet, so wird doch ein langes Verweilen des Bieres auf der Hauptgärung z. B. in zu kalt gewordenen Kellern, oder die lange Lagerzeit auf dem Fafs wieder einen Ausgleich schaffen. In Brauereien, die sehr lange die Biere auf dem Fafs lassen, wird allmählich aber auch die wilde Hefe zum Absetzen kommen, und man wird beim Abziehen ein ziemlich keimfreies Bier erhalten, von dem man sich noch einige Haltbarkeit versprechen kann, vorausgesetzt, dafs beim Abziehen vorsichtig genug vorgegangen wird. Das Letzte aus dem Fafs dürfte immerhin eine grofse Menge wilder Hefen mitbekommen.

Die Eigentümlichkeit der meisten wilden Hefen, noch zwerghafte Zellen abzugliedern, bringt es mit sich, dafs auch ein etwa eingeschobenes Filter nicht alles zurückhält. Auf der Flasche, namentlich bei höheren Temperaturen — die wilden Hefen wachsen natürlich bei dieser besser wie in der Kälte, namentlich wenn die Konkurrenz mit der Kulturhefe fehlt — beginnt nun für die Mehrzahl der wilden Hefen die Periode der kräftigsten Entwicklung. Innerhalb weniger Tage kann die Bildung eines Bodensatzes erfolgen, und nachher fängt die Trübung der ganzen Masse

an; schliefslich macht sich auch eine starke Kohlensäure-Entwicklung bemerkbar.

Ein Teil der wilden Hefen kann bei starker Infektion schon bei der Hauptgärung sich unliebsam geltend gemacht haben, z. B. durch Erzeugung eines kratzenden, bitteren Geschmacks (Hefe 51, welche ein Mittelglied zwischen den normalen Hefen und den wilden darstellt, ferner S. Pastorianus I).

Die luftliebenden Hefen, insbesondere die Kahmhefen, können bei zu langer Gärdauer ebenfalls schon auf dem Bottich massenhaft zur Entwicklung kommen; namentlich maltosearme Würzen sind ihnen günstig, weil hier die Kulturhefe verhältnismäfsig frühzeitig ihre Thätigkeit einstellt. Eine weitere Gelegenheit zu kräftiger Vermehrung bietet sich in schlecht verschlossenen oder nur teilweise gefüllten Gebinden oder Flaschen. Namentlich die leeren Flaschen mit den geringen Bierresten bilden den hauptsächlichsten Standort dieser Organismen.

Die Schwankhalle und die aus diesen abfliessenden Spülwasser sind infolgedessen besonders reich an wilden Hefen.

Indem die Spülwässer aus den Betriebsräumen fortgeleitet werden, wird gleichzeitig dafür gesorgt, dafs Milliarden von diesen Organismen wieder in Freiheit gelangen. Es ist dann aber auch nicht zu verwundern, wenn sich z. B. im Eis, das in benachbarten Teichen u. s. w. gewonnen wird, eine beträchtliche Menge Krankheitshefen, Kahmhefen, Torula-Arten u. a. nachweisen lassen. Eine massenhafte Entwicklung der Kahmhefen kann auch in den Preſshefenfabriken, die nach dem Lüftungsverfahren arbeiten, leicht stattfinden. In diesem Falle pflegt die Hefenausbeute aufserordentlich zu steigen. Da aber die Kahmhefen zumeist gar keine Gärkraft besitzen, ist die Hefe in dem Mafse, als Kahm vorhanden, minderwertig. Es sind Fälle beobachtet, wo die Kahmhefe bis 30% der Hefenmasse ausmachte.

Nach Beijerinck bilden die Zellen des S. fragrans eine ziemlich konstant auftretende Verunreinigung der Preſshefen.

Die wilden Hefen sind anfänglich weit mehr der Gegenstand von Specialuntersuchungen gewesen, als die Kulturhefen. Hansens Studien über die Pastorianus- und Ellipsoideusgruppe bildeten den Ausgangspunkt für eine exakte Forschung in dieser Richtung.[1]) Es war auch natürlich, dafs man zuerst diejenigen Organismen, welche Betriebsstörungen hervorzurufen im stande waren, genauer in ihren Eigenschaften und ihren

[1]) Hansen hat in dem II. Heft seiner „Untersuchungen aus der Praxis der Gärungsindustrie“ 1892 (Verlag von Oldenbourg, München und Leipzig) auch eine sehr eingehende historische Studie über die Entwicklung der Lehre von den Krankheiten in gärenden Flüssigkeiten veröffentlicht.

Lebensverhältnissen kennen lernen wollte. Von dem S. Pastorianus I wies Hansen nach, dafs er dem Bier einen unangenehmen, bitteren, kratzenden Geschmack verleiht, von S. Pastorianus III und S. ellipsoideus II, dafs sie Trübungen im fertigen Bier verursachen. Über andere Krankheitserreger wurden dann noch von Will und Lindner Mitteilungen gemacht. Kukla und Laschè lenkten dann die Aufmerksamkeit auf die Mykodermatrübungen; ersterer studierte die Beziehungen

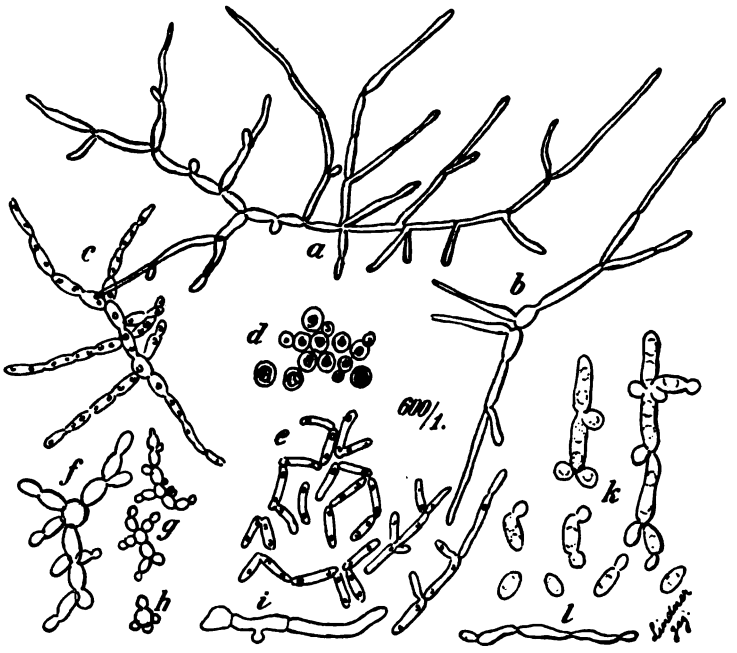


Abb. 180. Verschiedene wilde Hefen, die in einem Gärbottichspund angetroffen wurden. a, b, c Mit mycelialem Wachstum. d Torulahefe mit stark glänzenden Inhaltskörperchen. e kahmartige Form. f elliptische Hefe. g exiguusartige Hefe. h Torulahefe. i Schimmelspore keimend. k Pastorianus-artige Hefe. l unbekannte Form. Vergröfserung 600fach.

dieser Krankheit zu der Beschaffenheit der Würze und zu der Art der Gärführung.

Von Torula-Arten ist nur in einem Falle vom Verfasser ein Trübwerden des Bieres beobachtet worden. Die Trübung war hier aber nicht begleitet von einer besonderen Nachgärung, sie erreichte auch bei weitem nicht die Intensität, die bei anderen Hefen beobachtet wurde. Das Bier wurde nicht dick trübe, sondern nur stark schleirig und opalisierend. Durch van Laer und Morris wurde in jüngster Zeit die Mitwirkung gewisser Mengen wilder Hefen — selbstverständlich nur solcher, die nicht als Krankheitshefen sich ausweisen — zur Durchführung einer guten Nachgärung als durchaus wünschenswert bezeichnet, insbesondere

für die obergärigen Brauereien. In Belgien wird auch schon mit solcher Mischhefe vielfach angestellt. Verfasser und Schönfeld hatten durch Untersuchungen der Biere einer Anzahl norddeutscher Brauereien zwar die Gegenwart wilder Hefen konstatiert, jedoch deren Anzahl zu gering befunden, als dafs sie auf die Nachgärung im Lagerfafs erheblichen Einfluſs hätten ausüben können. Die Mehrzahl der betreffenden Brauereien hatte mit Reinhefe gearbeitet, und die wilden Hefen hatten sich von selbst während der Gärung eingefunden. (Siehe Seite 259.)

Mit der Feststellung der Thatsache, dafs in untergärigen Brauereien auch die Kulturhefe allein schon im stande ist, die Gärung im Lagerfafs weiterzuführen, ist natürlich noch nicht bewiesen, dafs das System der Mischhefe völlig überflüssig oder verwerflich ist. Hansen hat beobachtet, dafs bei geringen Zugaben von seinem S. Pastorianus III zu der Gärung mit normaler Hefe gelegentlich bessere Resultate erzielt wurden, als wenn die normale Hefe allein in Thätigkeit war. In einzelnen Fällen allerdings blieb ein solcher Unterschied aus. — Wir haben hier also den Fall, dafs sogar ein Krankheitserreger unter Umständen gute Dienste leistet. Nun giebt es aber wilde Hefen, wie S. Pastorianus II, die auch in gröfserer Beimengung nicht verderblich wirken. Die Verwendung solcher Hefen zu Mischungen wäre also durchaus unbedenklich.

van Laer hat eine Betriebshefe, welche in einer Brauerei seit Jahren mit Erfolg geführt worden, wiederholt untersucht und gefunden, dafs das Verhältnis von S. cerevisiae zu einer Torula-Art selbst nach 6 Monaten sich kaum verschoben hatte. Da die Torula grobflockige Beschaffenheit zeigte und beim Herabfallen andere Hefe mit einschlofs, war der Bruch besser, als in Gärungen mit der S. cereviae allein. Die Torula vergor Dextrose, Lävulose und Rohrzucker. In Bierwürzen findet sie wenig vergärbaren Zucker vor, trotzdem ist im Verhältnis zu dem Extrakt, den sie vergärt, ihre Hefenernte sehr grofs; sie besitzt einen hohen Vermehrungskoefficienten im Vergleich zu S. cerevisiae, die viel Extrakt vergärt, trotzdem ein geringeres Erntegewicht giebt[1]).

Eine andere Frage ist nun die: Wie lange bleibt das richtige Mischungsverhältnis bestehen? Bei der Verwendung von nur einer Rasse,

---

[1]) van Laer betont die Wichtigkeit, den sogenannten „Vermehrungskoefficienten“ einer Hefe festzustellen. Er bestimmt die Menge des vergorenen Extraktes und dividiert durch die erhaltene Hefenernte.

Beispiel: Würze 10,56 % Balling. Impfung mit Spuren der Hefen. Nach der Gärung hatte

S. cerevisiae 5,71, Torula 1,54 % Extrakt vergoren;

S. cerevisiae hatte dabei 0,391, Torula 0,408 g Hefenernte geliefert.

Vermehrungskoefficient bei S. cerevisiae $\frac{0{,}391}{5{,}7} = 0{,}068$, bei Torula $\frac{0{,}408}{1{,}5} = 0{,}272$.

die in einem Reinzuchtapparat fortlaufend zur Vermehrung kommt, weifs man stets, womit man arbeitet. Bei der Verwendung von Mischhefen können wir nur durch besondere mikroskopische Untersuchungen über den Konkurrenzkampf oder die Entwicklung der Symbiose Aufschlufs erhalten. van Laer hat in einer kritischen Besprechung der Analyse seiner Mischhefe durch Jörgensen dargelegt, wie umständlich die Methoden der quantitativen und qualitativen Hefeanalysen bisher gewesen sind. In letzter Zeit hat jedoch die Auffindung der Tröpfchenkultur eine Wandlung gebracht. Man ist damit im stande, Beimengungen von 1:10000 und darüber mit grofser Sicherheit feststellen zu können.

Hätten wir z. B. 10 Striche angelegt, und in jedem vielleicht bei der Aussaat 1000 Zellen gehabt, dann sind wir nach 1, spätestens 2—3 Tagen über das Mischungsverhältnis dieser 10000 Zellen im reinen. Da zur Unterscheidung der Häufchen der wilden Hefen von denen der normalen eine schwache Vergröfserung von 100fach linear zumeist schon genügt, wird die Durchsicht der 10 Striche nur kurze Zeit beanspruchen.

Bei dem Artenreichtum der wilden Hefen ist es noch schwieriger, eine scharfe Einteilung zu geben, als bei den Kulturhefen, zumal allenthalben Übergangsformen existieren. Für die Praxis am meisten Bedeutung haben diejenigen wilden Hefen, welche mit der Kulturhefe in der Vergärung der in den Würzen vorhandenen Zuckerarten konkurrieren können. Wir können hier zunächst

die Gruppe der Nachgärungshefen mit geringem Sauerstoffbedürfnis

aufstellen. Bemerkenswert ist die vom Verfasser und Dennhardt konstatierte Thatsache, dafs die meisten der aus Bieren isolierten wilden Hefen in der Vergärung der Bierwürzen zum Typus Saaz gehören: 48, 45, 105, 235, 237, 292, 323, 377, 604, 107, 120, 243, 46, 117 (S. Pastorianus III), 118 (S. ellipsoideus I), 241, 122, 368, 240.

Die Minderheit sind Frohberghefen: 115 (S. Pastorianus I), 116 (S. Pastorianus II), 119 (S. ellipsoideus II); ferner 51 (S. cratericus), dann 39, 40, 43, 44, 49, 52, 53, 89, 91, 121, 238, 605, 236, 576.

Nachdem durch Doemens und Munsche festgestellt, dafs die Hefe Saaz, sobald die Enzyme der Frohberghefe zugegen sind, auch zur Endvergärung führt, hat die Thatsache, dafs wilde Hefen vom Typus Saaz in der Nachgärung gefunden werden, nichts Befremdendes mehr.

Ein Teil der Hefen vergärt Dextrin, besonders 49, 118, 119, 539, 540. Melibiose und Trehalose werden von vielen kräftig vergoren. Inulin wird nur von 118, 119, 89 und 576 schwach angegriffen.

Mit Ausnahme einzelner Übergangsformen, die nach den Kulturhefen zuweisen (z. B. 51) gruppieren sich die Nachgärungshefen haupt-

sächlich um die von Hansen untersuchten Pastorianus- und Ellipsoideus-Arten.

Hier mögen einige wilde Hefen, die zu den Gärversuchen in Tabelle I (Rubrik k) benutzt wurden, kurz besprochen werden. Die Mehrzahl der aufgeführten Arten stammt aus untergärigen Brauereien, die Nummern **26, 27** und **28** aus Breslauer Kretschmerbier[1]).

Hefe **27** zeigt mehr oder weniger stark obergärige Erscheinungen. Also auch bei den wilden Hefen Ober- und Untergärung! Die Hefen 53 und 46, untergärige Hefen, stammen aus einem und demselben kranken Lagerbier. 53 ist eine stark vergärende, 46 eine schwach vergärende Rasse; beide geben flockige Bodensätze und gekröseartige Riesenkolonien. 26 und 28 geben gekröseartige Riesenkolonien, 27 eine flach ausgebreitete mit glatter Oberfläche.

Hefe **41** keimt in Würze in eiförmigen bis elliptischen Zellen aus; das Plasma der jungen Zellen ist homogen. In Würze bildet sie bei der Gärung einen scharf abgesetzten Bodensatz, der sich in Wasser staubig verteilt. Die Riesenkolonien zeigen eine radiär-konzentrische Oberflächenstruktur.

Hefe **141** stammt aus dem Bier einer Brauerei in Brasilien, bildet gekröseartig wachsende Riesenkolonien. Der Bodensatz in Würze wird leicht flockig. Zellen anfangs homogenes Plasma führend.

Hefe **52** (siehe Abb. 181). Bodensatz flockig. Riesenkolonie gekröseartig wachsend.

Hefe **115** entstammt dem Hansenschen Laboratorium und ist S. Pastorianus I; gab in der Gärung einen unangenehmen, pechartigen Geruch und einen rauchig bitteren Geschmack; in ungehopfter Würze war letzterer teerartig, rauchig. Bodensatzhefe leicht in Wasser sich verteilend und nur langsam sich absetzend. Junge Zellen zumeist homogenes Plasma führend.

Hefe **119**. Hansens S. ellipsoideus II gab einen etwas welligen Bodensatz; Hefe leicht aufzurühren und nachher schwer zum Absetzen zu bringen. Nach 10tägiger Gärung bei 16—17° R. schon kräftige Rahmbildung. Geruch birnätherartig. Geschmack des Bieres ähnlich, nicht unangenehm. Junge Zellen homogenes Plasma führend.

Über die Hefen der Abb. 181 noch einige Bemerkungen.

51 S. cratericus ist käsig-flockig im Bodensatz. Riesenkolonie ähnlich wie bei den untergärigen Kulturhefen; erzeugt einen kratzend bitteren Geschmack. Bodensatz mit kraterähnlichen Erhebungen.

43, 48, 52, 107 geben flockige, **44, 47** und **89** staubige Bodensatzhefe.

1. Verhalten in Tröpfchenkulturen. Die jungen Zellen führen bei der grofsen Mehrzahl der Arten ein fast homogenes Plasma. Die Hefen, welche später flockige Bodensätze liefern, lassen auch schon in den Tröpfchen die Neigung zur Bildung festerer Sprofsverbände erkennen. Die Flocken haben nicht die Fähigkeit, miteinander zu gröfseren Verbänden zusammenzutreten, wie dies bei der untergärigen Kulturhefe geschieht. Ob das Plasma homogen oder granuliert ist, eine Verwechslung mit Kulturhefe ist schon wegen der Gröfse und Form der

[1]) Neuerdings verwendet man zur Bereitung des Breslauer Kretschmerbieres auch untergärige Lagerbierhefe.

Zellen bei diesen Hefen nicht leicht möglich. Die Zellformen, die in der jungen Tröpfchenkultur auftreten, weichen kaum von den in der Abb. 181 dargestellten ab. Manche Nachgärungshefen zeigen in der Würze nicht ein so kräftiges und gesundes Aussehen, als man bei der reichlichen Nahrung erwarten sollte. In Biertröpfchen ausgesäet, behalten sie oft länger ein gesundes Aussehen. Mehrere Tage alte Tröpfchenkulturen zeigen zumeist reichliche Bildung sehr kleiner Zellen, die sich mehr am Rand des Tröpfchens sammeln. Nach noch längerer Zeit tritt häufig eine Sporenbildung ein; bei der Aussaat in Biertröpfchen scheinen dafür die Bedingungen günstiger zu sein. Die Sporen sehen hier zumeist kräftiger aus, als solche vom Gipsblock. Die

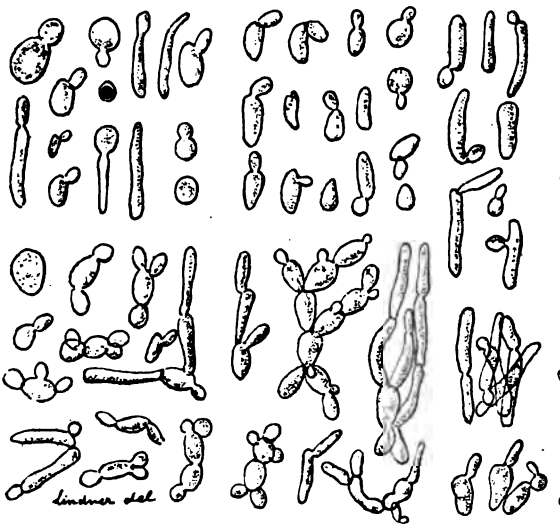


Abb. 181. Vergrößerung 600fach. Vegetation aus den gärenden Bottichwürzen einer untergärigen Brauerei, deren Biere an Hefentrübung litten.

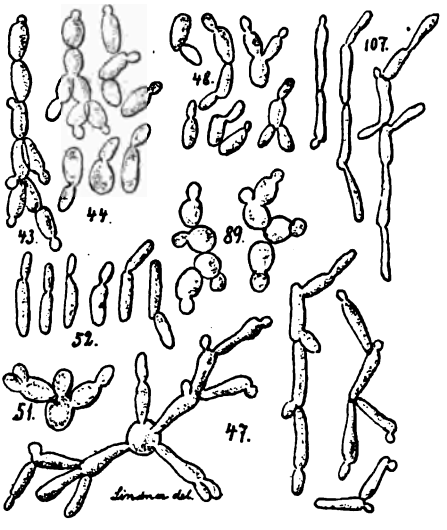


Abb. 182. Vergrößerung 600fach. Keimungsbilder verschiedener Nachgärungshefen.

staubigen Hefen liefern selten größere Sprofsverbände. Die Tochterzellen fallen frühzeitig von der Mutterzelle ab. Die Zellenproduktion ist namentlich bei den staubigen Hefen in den Tröpfchen oft eine enorme.

2. Verhalten in der Tropfenkultur. Die Mehrzahl der Arten verteilt sich staubartig im Tropfen; die leichtflockigen Hefen bilden kleine weifse Körnchen, die bei dem Neigen der Petrischale am Glase sich rollend fortbewegen. Sind zufällig eine staubige und eine flockige Hefe in demselben Tropfen zur Aussaat gekommen, dann erhält man ungefähr dasselbe Bild, als wenn man Prefshefe, der etwas Reisstärke zugesetzt ist, in Wasser verteilt.

3. Verhalten auf dem Gipsblock. Da die Mehrzahl der Hefen dieser Gruppe wenig feste Bodensätze bildet, ist das Aufbringen

derselben auf den Gipsblock mit gröfseren Schwierigkeiten verknüpft als bei den Kulturhefen. Das Auffrischen der Hefe erfordert besondere Sorgfalt und ist eigentlich für jede Hefe besonders der Zeitpunkt der Reife für den Gipsblock mikroskopisch zu ermitteln. Die Sporen sind zum grofsen Teil stark lichtbrechend und homogenen Inhalts. Die Sporenzahl geht selten über 4 und erreicht nur selten 8. Hansen bildet sogar eine Zelle von S. Pastorianus III mit 9 Sporen ab. Oft erscheinen die Sporen durch gegenseitigen Druck abgeplattet.

Die Zeit, innerhalb welcher die Sporen auftreten, ist bei den einzelnen Arten verschieden; eine kräftige Ernährung vorausgesetzt, fängt bei 25° C. zumeist schon nach 24 Stunden die Sporenbildung an. Eine

Abb. 183.
Zellen von einer Pastorianus-artigen wilden Hefe, welche 25 Stunden auf dem Gipsblock gelegen hatten.

der beiden von Will beschriebenen Krankheitshefen zeigte dieselbe bei 25° C. schon nach 14½ Stunden, bei 34° C. nach 11 Stunden.

Die Hefe 51 giebt nach 18 Stunden bei 25° ebenfalls schon zahlreiche Sporen.

4. Hautbildung. Bei Zimmertemperatur hingestellte Gärungen zeigen zumeist innerhalb 14 Tagen schon mehr oder weniger kräftige

Abb. 184.
Sporenbildung bei einer Pastorianus-artigen wilden Hefe.

Decken. Einzelne Arten, wie S. ellipsoideus II, bilden solche besonders schnell.

In der nachstehenden Tabelle finden wir einige Angaben über die Abhängigkeit der Sporen- und Hautbildung von der Temperatur.

(Siehe Tabelle folgende Seite.)

5. Gärungserscheinungen. Mit wenigen Ausnahmen tritt nur selten eine schnelle Klärung ein. Die Bodensätze sind ungleich schwächer als bei Kulturhefen und liegen zumeist wenig fest, gleichgültig ob sie mehr staubiger oder mehr flockiger Natur sind.

6. Wachstum der Riesenkolonien (vgl. Tafel III). Die Riesenkolonien anlangend, finden wir sowohl solche, welche kompakt wie Unterhefen sich aufbauen (51, die Schornsteinhefe und 236), als auch solche,

Tabelle bezüglich Hautbildung einiger Hefen.

	Saccharomyces					
	cerevisiae I	Pastorianus			ellipsoideus	
		I	II	III	I	II
Aussehen der Zellen in den bei 13—15° C. entstandenen Hautformen	Zellen nicht wie bei der Aussaat gleichmäfsig rund oder eiförmig	langgestreckte mycelartige Zellen	überwiegend ovale und runde Zellen	stark entwickelte Kolonien fadenartiger Zellen	reich verästelte Kolonien; Äste oft quirlständig	Zellen wie bei der Aussaat
Beginn der Hautbildung auf der Oberfläche der Bierwürze in auf 13—15° C. gehaltenen Kulturen nach	15—30 Tagen	15—30 Tagen	10—25 Tagen	10—20 Tagen	15—30 Tagen	8—10 Tagen
auf 26—28° C. gehaltenen nach	7—11 Tagen	7—10 Tagen	7—10 Tagen	7—10 Tagen	9—16 Tagen	4—5 Tagen

welche wie die Mehrzahl der obergärigen Hefen sich flach tellerartig ausbreiten (89 und 121); bei den ersteren ist die radiäre Struktur der Oberfläche auffällig, bei letzteren macht sich mehr eine konzentrische Schichtung geltend; von hier finden sich Übergänge zu ganz flachen, fast strukturlosen Kolonien (49, 44). Durch Kombination der radiären und konzentrischen Zeichnung erhalten wir Kolonien wie 235. Nun vollzieht sich noch eine weitere Änderung. Die radiären Strahlen verzweigen sich vielfach und zerklüften so die ganze Kolonie, besonders in der Nähe des Randes. Ein mehr selbständiger Typus kommt bei den gekröseartigen Kolonien zum Vorschein; hier frifst sich die unterste Schicht in die Gelatine ein, es entstehen nach der Tiefe traubenförmige Massen, welche, nach unten sich erneuernd, nach oben die älteren Zellenmassen kräusenartig abstofsen (52, 199). Mitunter kommt allerdings hier noch das Bestreben, auf der Oberfläche der Gelatine horizontal weiter zu wachsen, neben dem Wachstum in die Tiefe zum Durchbruch (107).

Im allgemeinen wachsen die flockigen Hefen mit gekröseartigen Riesenkolonien, während die staubigen entweder glatte oder radiär-konzentrisch gezeichnete Riesenkolonien bilden.

7. Wachstum in und auf dünner Gelatineschicht. Bei der Plattenkultur entwickeln sich zum Teil runde, glatte, zum Teil mycelartig ausstrahlende Kolonien.

Die flockigen Hefen wachsen zumeist nach dem letzteren, die staubigen nach dem ersteren Typus.

Läfst man Würzegelatine an der Wandung eines Luftcylinders erstarren und trägt man dann eine Anzahl wilder Hefen in langen Impfstrichen auf, so erhält man nach kurzer Zeit schon fein faserig ausstrahlende Beläge. Nur selten kommt es vor, dafs die wilden Hefen einen glatten Strich geben, wie er für die meisten Kulturhefen charakteristisch ist. Solche Kulturen auf dünner Gelatineschicht trocknen allmählich ein und geben prächtige Dauerpräparate für Demonstrationszwecke.

Trotz der früh eintretenden Trockenheit bleiben die Hefen in solchen Kulturen über ein Jahr hinaus lebendig. Zum Überimpfen ist vorheriges Aufweichen mit einem sterilen Wasser- oder Würzetropfen anzuempfehlen.

Gruppe der Kahmhefen.

Die durch zahlreiche Arten vertretenen Hefen dieser Gruppe wählen sich mit Vorliebe als Standort entweder die Oberfläche der Flüssigkeiten oder die Wandungen der Gefäfse und Leitungen, überhaupt die feuchten Flächen, an denen ihnen etwas Nahrung geboten wird.

Bezüglich der Vergärung der Zuckerarten ist zu bemerken, dafs manche Arten, wie die Hefen der vorigen Gruppe, Maltose, Glukose und Saccharose in Gärung bringen; allein schon während der letzteren macht sich das Sauerstoffbedürfnis in so hohem Mafse geltend, dafs ein grofser Teil der Zellen an die Oberfläche der Flüssigkeit tritt und die Bildung einer Haut einleitet. Diese Arten bilden die natürlichen Zwischenglieder zwischen den Hefen der früheren Gruppen und der grofsen Zahl von Kahmhefen, welche die Maltose nicht vergären können und daher bei ihrem Auftreten in Würze oder Bier gar keine oder, falls sie Glukose zu vergären im stande sind, höchstens Spuren einer Gärung erkennen lassen.

In ernährungsphysiologischer Hinsicht machen sich folgende Unterschiede mit den früheren Hefen geltend. Während die Wein- und Bierhefen hauptsächlich auf Amide und Peptone angewiesen sind, Ammonsalze aber nur schwierig assimilieren, giebt der Kahmpilz diesen den Vorzug. Nitrate sind nur für vereinzelte, Nitrite für keine dieser Organismen Stickstoffquellen. Die von Beijerinck beschriebene kahmhautbildende Essigätherhefe ist bisher das einzige bekannte Beispiel für eine Hefe, welche ihren Stickstoffbedarf Nitraten zu entlehnen vermag. Obwohl Kahmhefen einzelne Zuckerarten für ihr Wachstum gebrauchen können, ist damit noch nicht immer die Gärfähigkeit gegeben. Die Kahmpilzhefe vermag Rohrzucker, Maltose und Milchzucker nicht zu assimilieren, dafür vermag sie sich aber die bei der Alkoholgärung entstehen-

den Produkte, wie Alkohol, Bernsteinsäure und Glycerin, auch die durch die Essigsäurebakterien erzeugte Essigsäure nutzbar zu machen; auch die durch die Essigsäurebakterien aus Zucker gebildete Glukonsäure wird von dem Kahmpilz assimiliert. Da die Kahmhäute in hohem Maſse befähigt sind, den Sauerstoff auf die durch die Gärung gebildeten Produkte zu übertragen, kann bei Gegenwart nur geringer Mengen vergärbaren Zuckers das geringe Gärvermögen des betreffenden Pilzes leicht übersehen werden.

Beijerinck ist es gelungen, mehrere Hundert Kubikcentimeter Äthylalkohol durch Gärung des Kahmpilzes in Glukoselösung zu erhalten. Die Gärungen wurden in Pasteurschen Kolben von 1 Liter Inhalt angesetzt. Ausgezeichnet wegen der Reinheit des erzeugten Alkohols erwies sich folgende Lösung: 1 Liter Leitungswasser, 100 g Glukose, 2 g Biammonphosphat, 0,1 g Chlorkalium, 0,05 g Magnesiumsulfat. Die Kolben waren $^3/_4$ damit gefüllt, die beiden Tubulatoren enthielten Watte, um ein Durchsaugen der Luft und das Entfernen der Kohlensäure zu ermöglichen. Eine allzureiche Luftzufuhr ist zu verhindern, da hierbei nicht nur der Alkohol, sondern auch der Zucker zu Kohlensäure und Wasser verbrannt wird. Bei fehlendem Sauerstoff bleibt andererseits Wachstum wie Gärung aus.

Um den Nachweis zu führen, ob der eine oder andere Kahmpilz im stande ist, Glukose zu vergären oder nicht, bedarf es nur der Herstellung einer Impfstichkultur in einem Gelatineröhrchen mit Glukosehefewassergelatine. Bei Zerlegung des Zuckers treten in der Gelatine Gasblasen auf. Schneller kommt man zum Ziele mit einem Gärversuch im hohlen Objektträger. Nach einigen Stunden bemerken wir hier schon die Bildung von Gasblasen, sofern die Hefe Glukose zu vergären im stande ist.

Das hervorragende Merkmal der Kahmhefe ist die frühzeitige Bildung einer Kahmhaut. Eine solche entsteht entweder durch Vereinigung ursprünglich getrennter Inseln oder durch ein beständig fortschreitendes Wachstum von der Gefäſswandung aus. Die junge Haut ist zumeist sehr elastisch; man kann die Flüssigkeit in dem Gefäſse ziemlich stark bewegen, ohne daſs sie zerreiſst. Später allerdings, mit zunehmender Schichtendicke, verschwindet zumeist diese Eigenschaft; es giebt Kahmhäute, welche ganz bröcklig werden. Die Zellen der Kahmhäute zeichnen sich in der Regel durch Besitz eines oder mehrerer stark lichtglänzender Kügelchen aus, die aus fettartigen Verbindungen bestehen. Auch zellkernähnliche Gebilde lassen sich öfter wahrnehmen.

Eine andere Eigentümlichkeit der Kahmzelle ist, daſs sie weniger leicht von der Flüssigkeit benetzt wird, als andere Zellen; es hat fast den Anschein, als ob die Zellmembran von einer fettigen Substanz durchtränkt würde, welche die Adhäsion mit der Flüssigkeit aufzuheben vermag. Das spezifische Gewicht der Kahmhefezellen mag für die Bildung der Kahmhäute weniger von Belang sein, als diese Eigenschaft. Bringt man ein Stückchen einer jungen Kahmhaut in den hängenden Tropfen, so bleibt

die Haut unten liegen und geht nicht, wie es isolierte Fetttröpfchen thun, an das Deckgläschen. Bringt man benetzte Mykodermazellen in den hängenden Würzetropfen, so bemerken wir nach einiger Zeit, dafs sie sich zum Teil annähernd senkrecht zum Meniskus stellen und, die Oberflächenspannung überwindend, einen jungen Sprofs in den Luftraum hindurchdrücken. Diese kleine Zelle erscheint uns dann als ein stark lichtglänzendes Kügelchen, das, wenn es direkt unterhalb der Mutterzelle zu liegen kommt, leicht als ein Inhaltskörper der letzteren angesehen werden kann. Verändert nun die Mutterzelle infolge des zunehmenden Gewichtes der Tochterzelle oder aus sonstigen Ursachen ihre Lage so, dafs die Projektion des jungen Sprosses aufserhalb der Umrisse der Mutterzelle zu liegen kommt, dann meint man leicht, der Inhaltskörper wäre durch die Wand der Mutterzelle nach aufsen gelangt, gleichsam geboren worden.

Da die aufserhalb des Tropfens befindlichen, von der Würze nicht benetzten Zellen nicht sehr zum Aussprossen kommen können, werden wir annehmen müssen, dafs die innerhalb des Tropfens an der Luftgrenze befindlichen Zellen vorwiegend an der Bildung der Haut beteiligt sind. Wie manche Tiere beim Untertauchen im Wasser eine Luftschicht mit sich führen, so ist auch bei untergetauchten Hautstücken die reichliche Gegenwart von Luftblasen auffallend.

Fischer und Brebeck behaupten, dafs die Zellen der Kahmhaut von stark lichtbrechenden Kügelchen, die innerhalb der Mutterzellen entstanden und dann aus diesen herausgetreten sind, abstammen. Sie haben auf Grund dieser Annahme eine Gattung Endoblastoderma aufgestellt, doch dürfte nach Ansicht des Verfassers dieser Name kaum Bestand haben, da die endogene Natur der genannten Kügelchen bestritten werden mufs. Die letzteren sind nichts weiter als die ersten, nach dem Luftraum zu gebildeten Ansätze neuer Tochterzellen. In dem Sinne allerdings sind sie endogenen Ursprungs, als ihr Inhalt aus der Mutterzelle stammt, da sie nicht wie andere Ansätze, die innerhalb der Flüssigkeit angelegt werden, sich selbständig ernähren können.

Die Häute erscheinen bald grau, mattglänzend, bald gelblichweifs bis reinweifs, mehlig; bald bleiben sie glatt und gespannt, bald legen sie sich in mehr oder weniger zierliche Falten. (Tafel IV, 82.)

Merkwürdigerweise bleiben oft bei den nicht gefalteten Häuten einzelne Stellen der Würzeoberfläche unbedeckt, und hat es dann immer den Anschein, als ob die Haut Löcher oder Risse bekommen hätte. Die Erscheinung bedarf noch der Aufklärung.

Über das verschiedenartige Verhalten der Kahmhefen in Würze mögen uns einige Beobachtungen, die Verfasser bei einer gröfseren Versuchsreihe gemacht hat, etwas orientieren.

Am 18. August 1890 wurden zum Vergleich der einzelnen Kahmhefen der Sammlung je 50 ccm Würze in Kölbchen geimpft.

Am 30. August wurde folgender Befund aufgenommen:

59 } gekröseartige Decke; ziemlich kräftiger Bodensatz. Die Decke von 59
67 } zeigte einen schwachen Stich ins gelbliche; die von 67 war kräftiger und regelmäfsiger gestaltet und mehr rein weifs.

Im Jahre 1893 wiederholte Kulturen gaben die nämlichen Erscheinungen.

66 gleichmäfsig ausgebreitete, ziemlich dicke, matte, graue Haut, die an einzelnen Stellen punktförmige Lücken aufweist, welche auch später sich nicht schlossen und die Würze durchblicken liefsen. Haut von der Glaswandung einige Millimeter abstehend; kräftiger Bodensatz wie bei 59 und 67.

68 schwach entwickelte, matte, graue Haut mit vereinzelten, mehr weifs erscheinenden Inseln. Bodensatz gering, aus kleinen kugeligen Flocken bestehend. (1893 ebenso.)

69 matte Decke, durch schwach glänzende, dünnere Schichten unterbrochen; kräftiger Hefenring an der Glaswandung; scharfer, kräftiger Bodensatz.

101 sehr schön regelmäfsig gewellte Haut, an der Glaswandung hochsteigend; geringer und nicht scharf abgesetzter Bodensatz.

70 Haut zum Teil schon am Boden abgelagert, oben matt, nicht kontinuierlich. 26. Juni bis 13. Juli 1893.

71 kräftige weifse Inselkolonien, wie Seerosenblätter auf der Würze schwimmend; sehr geringer, aus herabgefallenen Hautfetzen bestehender Bodensatz.

177 (S. anomalus aus Eibischsaft) matte Decke mit langgezogenen Rifsstellen; auf der grauen Haut weifse, spitz zulaufende Schichten weniger Bodensatz als bei 59 und 67.

126 (S. anomalus belgicus) sämige Decke, an sehr zahlreichen Stellen kreisförmige Löcher aufweisend; starker Bodensatz.

127 matte Haut, infolge zahlreicher, schwach glänzender Risse blattartige Nervatur zeigend; später monotone Haut.

170 ähnlich wie 67 eine prächtige Faltenbildung zeigend; Oberfläche etwas mehlig.

178 (aus Eibischsaft) monoton grau.

250 (aus Gallengärung) zierliche Faltung, grau bis weifs, später monoton grau.

267 aus einer Prefshefenfabrik, die nach dem Lüftungsverfahren arbeitete; ähnlich wie 67, jedoch mehr weifs, mehlig.

268 (von einer Musafrucht) gesprenkelte Haut, anfangs matt, später stark gepudert; aufserordentlich schnell wachsend, schollenartig auseinanderbrechend; keine Faltung.

Das Aussehen der Kahmhäute ist je nach dem Alter der Kultur sehr verschieden.

Von verschieden alten Kulturen der Hefe 82 z. B. sind photographische Aufnahmen gemacht worden, die wenig Übereinstimmendes zeigen. Die eine Kultur hatte vom 6. bis 26. September 1890 gestanden, die andere vom 30. Juni bis 3. Juli 1893. Letztere zeigte eine kräftige, gekröseartige Kahmdecke (Tafel IV, 82), jene nur noch ein schwaches Häutchen, das aus lauter eckigen Schollen bestand, die infolge ungleicher Dicke der Haut ein Bild geben, das einer Schlifffläche von künstlichem Marmor ähnlich sieht.

Über den Einfluſs der Temperatur auf die Schnelligkeit des Wachstums der Häute die folgenden Angaben:

125, 126, 75, 77 wurden bei 15, 20 und 25° R. gleichzeitig in je 50 ccm gehopfter Würze ausgesäet.

126 bei 15° R.
75 „ 15° R.
125 „ 20° R.
177 „ 25° R.
} am schnellsten und kräftigsten wachsend. Bei 30° R. in derselben Zeit (5 Tagen) noch keine Entwicklung sichtbar.

Bezüglich der Kahmhefen der Berliner Sammlung gebe ich noch folgende Zusammenstellung.

Besonders schöne gekröseartige Decken zeigen: 59, 67, 82, 125, 170, 250, 267.

Weniger starke Faltenbildung der Decken: 101, 102, 272.

Monotone, meist graue oder weifse Riesenkolonien geben: 66, 67, 75, 101, 102, 127, 153, 177, 178.

Gekröseartige Riesenkolonien geben: 59, 69, 125, 126, 170, 197; 68, 70, 71, 271, 313, 362.

Die letzten sechs Hefen zeigen dabei eine rauhe, kurzhaarige Oberfläche.

In Würze-, Dextrose- und Rohrzucker-Hefenwassergelatine geben sämtliche bekannten Kahmhefen feinfaserige Impfstiche; besonders schön sind diese Bildungen bei 67, 69, 70 und 71.

Kahmhefen, die zur Mycelbildung neigen: 68, 70, 71, 195, 252, 313, 358, 362.

Ein Vergleich einer Reihe mikrophotographischer Bilder von Zellen aus alten Kahmhäuten liefs zwar keine durchgreifenden — aufser bei den mycelbildenden Formen — aber doch kleine Unterschiede erkennen.

Nach der Durchschnittsgröfse der Zellen geordnet kam folgende Reihe zu stande.

59 Zellen eirund oder elliptisch, mit zumeist excentrisch gelegenen Fetttröpfchen.

127 Zellen fast kugelig, mit ziemlich grofsen Fetttröpfchen, wie bei typischen Torulahefen.

101 Zellen schmal, doppelt so lang als breit, fast parallelwandig.

66 Zellen etwas breiter.

69 Zellen noch breiter, durchschnittlich 2 bis 3 Fetttröpfchen in der Zelle.

102 wie 69, doch vereinzelt gröfsere Zellen.

170 Zellen elliptisch, 1½mal so lang als breit.

178 wie vorige, jedoch Zellen durchschnittlich etwas gröfser.

67 cylindrisch, 2—3mal so lang als breit; in Dextroselösung sehr langzellig wachsend. Innerhalb der Vakuole ein lebhaft hüpfendes Körperchen.

82 wie 67, daneben Sprofsverbände mit langen, birnenförmigen Gliedern bildend.

Die Riesenkolonien der Kahmhefen.

Ähnliche Gegensätze wie in den Hautbildungen zeigen sich auch beim Wachstum der Riesenkolonien (vgl. Tafel IV). Der Formenreichtum ist hier gröfser, als bei irgend einer anderen Hefengruppe. Bald stellen sie mattgraue bis graugelbliche Beläge ohne jede Oberflächenzeichnung dar (66), bald solche mit blattartiger Nervatur (75); bald zeigen sie äufserst zarte und dicht aufeinanderfolgende konzentrische Kreise (101), oder es treten vom Centrum der Kolonie aus keilförmige Schichten auf, die sich nach aufsen verbreitern und hierbei zumeist ein

mehlartig trockenes Aussehen annehmen (177), oder es kräuselt sich die ganze Oberfläche in einer Unzahl bald zierlicher (170 und 69), bald grober Falten (125). Bald erscheint die Kolonie wie ein Hügel, auf dessen Abhang mehrere Ringwälle aufgeworfen sind, bald wie eine Gebirgsmasse, die vom Centrum aus wiederholt dichotomisch verzweigte Ausläufer nach der Ebene sendet (252), bald wie ein Ätna en miniature, der auf dem gleichmäfsig ansteigenden, mit weifsem, puderartigem Staub bedeckten Abhang zahlreiche Nebenkrater in Form kleiner, warzenartiger Erhebungen trägt (67), bald wie ein breiter, runder Kuchen, dessen Oberfläche Risse bekommen hat, durch welche die teigige Masse in Form

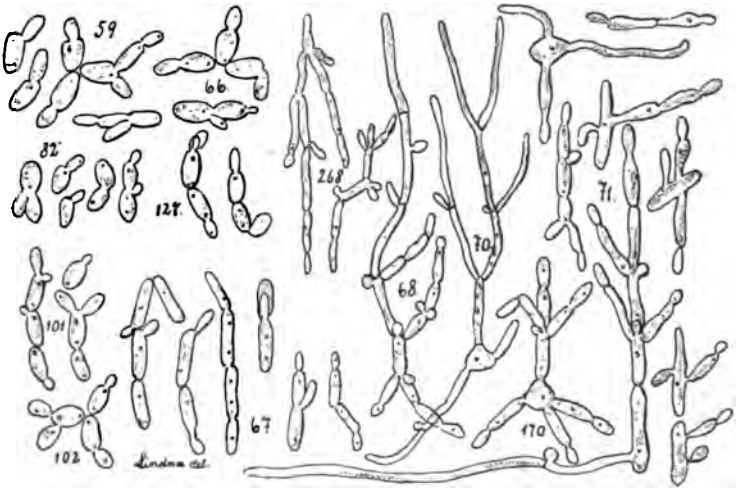


Abb. 185. Keimungsbilder zwölf verschiedener, nicht sporenbildender Kahmhefen in Würzetröpfchenkulturen. Vergröfserung 600fach.

niederer Wülste hervorquillt (362), oder wie ein solcher, dessen Masse sich strahlenförmig eingesenkt hat (290).

Über die Keimungsbilder einer Anzahl nicht sporenbildender Kahmhefen orientiert uns die Abb. 184. Die Zellen sind in jungen Kulturen oft nicht von denen anderer wilder Hefen zu unterscheiden; später erscheinen jedoch in ziemlich regelmäfsiger Verteilung kleine Fetttröpfchen, oder es wölben sich eine gröfsere Anzahl von Zellen in den Luftraum hinaus vor, wodurch sie glänzend und heller erscheinen als die übrigen Zellen. Das Plasma ist durchweg homogen und verhältnismäfsig spärlich vertreten; infolgedessen ein leeres Aussehen der Zellen (siehe Abb. 185, Hefe 178). Die Zellenzahl eines Tröpfchens bleibt bei manchen Arten sehr gering. Es ist bei den Kahmhefen zumeist noch schwieriger, die einzelnen Arten mikroskopisch voneinander zu unterscheiden, als bei den anderen Hefen, weil dieselbe Zellform bei allen

Arten vorkommt. In den Tröpfchenkulturen begegnen wir häufig grofsen Sprofsverbänden, noch häufiger aber tritt ein baldiger Zerfall ein.

Sporenbildende Kahmhefen.

Ein Teil der Kahmhefen bildet Sporen; dieselben sind bei einigen Arten kugelig, bei anderen haben sie die Form eines Hutes (vergl. Abb. 189).

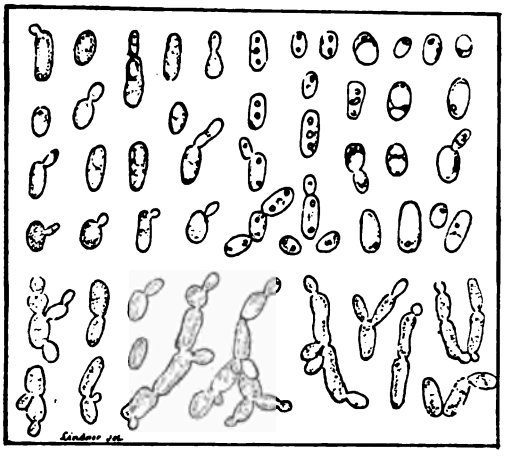


Abb. 186. Kahmhefe (Nr. 178) aus Eibischsaft.
Zellen aus älteren Häuten und jungen Würzetröpfchenkulturen.

In diese Gruppe gehören Hansens Saccharomyces membranaefaciens und S. anomalus, Lindners S. hyalosporus farinosus, S. anomalus var. belgicus und einige andere mit dem S. anomalus nahe übereinstimmende oder gar identische Arten, von denen eine Art aus Alehefe, die andere aus gärendem Eibischsaft und eine dritte aus einer Hefevegetation auf Grünmalz, eine vierte aus armenischem „Mazun" isoliert wurde. Mit Ausnahme des S. anomalus belgicus bilden sämtliche Anomalus-Arten wie mit Puder oder mit Mehl bestreute Kahmhäute. In Würze rufen sie bald stärkere, bald schwächere Gärungen hervor, je nachdem sie befähigt sind, die verschiedenen Zuckerarten zu vergären, erzeugen aber nach Bildung der Kahmhaut Fruchtäther (hauptsächlich Essigäther). Belgicus ruft gar keine Gärungserscheinungen hervor und bildet eine etwas gefleckte, sämige Kahmhaut.

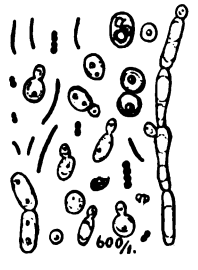


Abb. 187.
Hefen und Bakterien aus armenischem Mazun.

S. membranaefaciens Hansen bildet eine elastische hellgraue Haut, die sich leicht in Falten legt; er ruft keine Gärungserscheinungen hervor; wurde im Schleimfluss von Ulmenwurzeln gefunden. Riesenkolonie: kegelartiger Aufbau; Oberfläche feinrissig.

S. hyalosporus (Lindner) bildet eine zarte Haut auf Würze. Sporen kugelig, wie Glasperlen erscheinend, in der Mitte ein glänzendes Kügelchen führend; ruft wie der vorige keine Gärung hervor. In einer dem Laboratorium eingesandten Bierprobe eines Hefereinzuchtapparates gefunden (siehe Abb. 187 und Erklärung). Riesenkolonie: mattgrau mit blattartigen Zeichnungen, Tafel IV, 75.

S. farinosus, vom Verfasser aus Danziger Jopenbier isoliert, bildet blendend weifse Häute, die wie geknittertes Seidenpapier gefaltet sind und wie mit Mehl bestreut erscheinen; ruft keine Gärung hervor. In der Haut massenhaft Sporen bildend. Über Verlust der Sporenbildung vergl. S. 181.

Das mikroskopische Bild der Hefezellen ist sehr abweichend von dem einer normalen Hefe. (Abb. 188.)

Vor allem fällt die schmächtige Form der Zellen auf; nur selten begegnet man etwas korpulenteren Individuen. Die Umrisse namentlich älterer Zellen sind nicht selten eckig. Derartig eckige Vorsprünge bezeichnen die Ansatzstellen bereits abgefallener Tochterzellen. Indem öfters nur das eine Ende Sprofszellen bildet, bekommt die Mutterzelle die Form eines dünnen Keiles. Die nachstehende Abb. 188 bringt eine Auswahl der verschiedenen Zellformen.

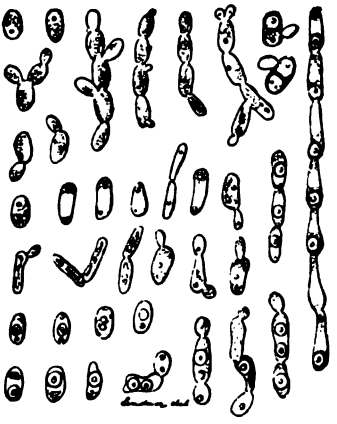


Abb. 188. Saccharomyces hyalosporus n. sp. Vergröfserung 600fach.
Die oberen Reihen links stellen junge, in Würze auskeimende Zellen dar, weiter rechts zwei Zellen mit je zwei Sporen; je eine davon hat mit dem Aussprossen begonnen. — Die untere Hälfte des Bildes stellt Zellen aus einer älteren Kahmhaut dar, von denen einige perlenähnliche Sporen gebildet haben. Die Zellen sind dünnwandig und ziemlich inhaltsleer. Die aus sieben Gliedern bestehende Zellenreihe, welche rechts das Bild abschliefst, stammt aus einer sechswöchigen Kultur auf Rohrzuckergelatine.

Riesenkolonien mit herrlichem Faltenwurf und puderartigem Belag resp. an den Randpartien mit hellglänzenden Schüppchen. Tafel IV, 125.

Gruppe des Saccharomyces anomalus. Von den Anomalushefen ist die von Zeidler aus Eibischsaft isolierte (Nr. 177) in Abb. 189, die aus belgischem Bier isolierte (Nr. 126) in Abb. 190, die aus Grünmalz isolierte (Nr. 197) in Abb. 197, Seite 390 dargestellt.

Die Anomalus-Arten zeigen aufserordentliche Schwankungen in der Zellengröfse. Besonders instruktiv sind hier die Beobachtungen in der Tröpfchenkultur. Mit zunehmendem Alter der Kultur werden die neugebildeten Zellen immer kleiner und nehmen diese dann gewöhnlich die Randpartien des Tröpfchens ein, während in der Mitte die grofsen, fast wie normale Hefe aussehenden Zellen sich lagern. Die Sporenbildung kommt in den Tröpfchen ziemlich häufig vor, und können wir hier auch be-

obachten, wie nach Abwerfung der Mutterzellwand die Sporen in Freiheit gelangen. Es wechselt auch das Aussehen der Zellen: die einen gleichen Torulazellen, die anderen der Exiguushefe; auch mycelartige Verbände sind nicht selten (siehe Abb. 191). — Auffällig ist, wie wenig solche Würzen, die Fruchtätherhefen enthalten, selbst in unbedeckten Gefäfsen durch andere Organismen verunreinigt werden; sie bleiben nahezu bakterienfrei, offenbar infolge der antiseptischen Wirkung der Fruchtäther.

Saccharomyces anomalus var. belgicus (Lindner) stammt aus einem belgischen Bier, wächst auf Würze in Form einer sämigen, punktierten Kahmhaut, vergärt die Hexosen spurenweis, erzeugt auch keinen Fruchtäther. Die Zellen sind verhältnismäfsig klein, dünnwandig

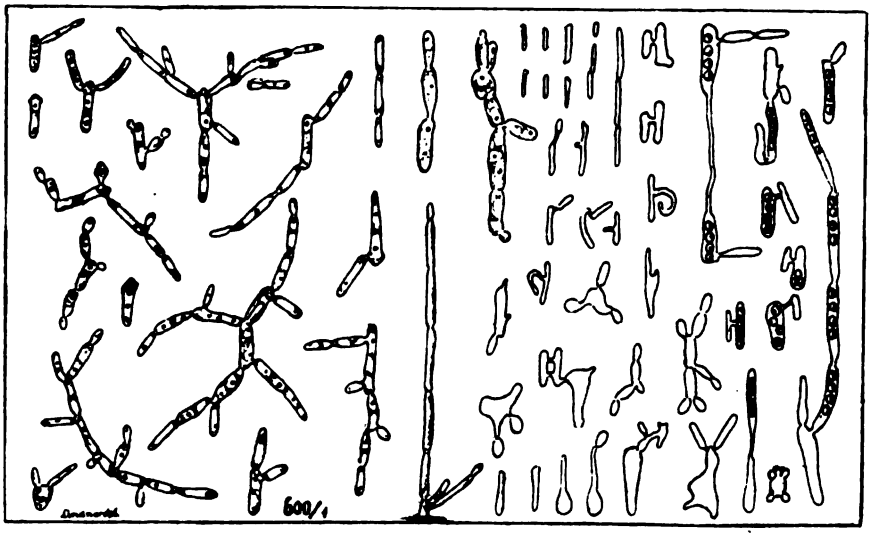


Abb. 189. Saccharomyces farinosus. Vergröfserung 600fach.
Die Zellen der linken Hälfte stammen aus einer jungen Tröpfchenkultur in Würze, die der rechten zumeist von einer 22tägigen Impfstrichkultur auf Würzegelatine; ganz rechts finden wir Zellen aus der Kahmhaut einer 14tägigen Kultur in Würze.

und inhaltsarm. Die hutförmigen Sporen kömmen meist so dicht zusammengedrängt vor, dafs man fast nur die scharfen Linien der Krempen sieht.

Saccharomyces anomalus (von Grünmalz) Nr. 197 hatte in einer lose verschlossenen, mit Grünmalz gefüllten Flasche einen intensiven Fruchtäthergeruch erzeugt, vegetierte sehr stark auf den Wurzelkeimen, namentlich auf der Wurzelhaube. Ist vielleicht identisch mit der Hansenschen Anomalus-Art. In Abb. 197 (Nr. 197) Seite 390 ist eine Vegetation aus einer Würzetröpfchenkultur dargestellt. Vergärt die Hexosen, Rohrzucker und Maltose.

Saccharomyces acetaethylicus ist eine Essigäther bildende Hefe, die Beijerinck aufgefunden, aber noch nicht näher beschrieben hat.

Eine von demselben Autor als Mycoderma cerevisiae var. pulverulentum bezeichnete Art erzeugt nach Fischer und Brebeck einen obstartigen Geruch und entwickelt sehr zahlreich hutförmige Sporen (also eine Anomalus-Art.) Kahmhäute weifspulverig.

Vom Verfasser ist eine Essigätherhefe aus einer Gallengärung isoliert worden, die bisher nicht zur Sporenbildung gebracht werden konnte. Dieselbe bildete ebenfalls weifse pulverige Häute mit zahlreichen feinen Falten. Keimungsbild in Würze siehe Abb. 197 (Nr. 250). Vergärt spurenweis Glukose und Fruktose.

Steuber hat 4 Anomalus-Varietäten, die aus einer badischen Brauerei (I), aus Kirschsaft (II), und aus dunklen Münchener Bieren

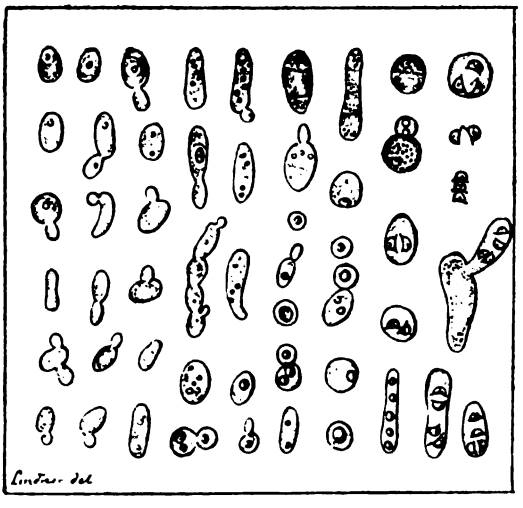


Abb. 190. Saccharomyces anomalus aus Eibischsaft, Hefe 177 (Zeidler).
Die mit durchweg homogenem Plasma erfüllten Zellen der linken Seite stammen aus einer jungen Tröpfchenkultur in Würze. Auftreten kleiner Fetttröpfchen innerhalb der Vakuolen. Die durch eine gröfsere Anzahl Fetttröpfchen ausgezeichneten Zellen weiter rechts stammen von einer 26tägigen Impfstrichkultur auf Würzegelatine. Ein Teil der Zellen enthält hutförmige Sporen.

(III und IV) stammten, genauer untersucht. Ihre Zwergkolonien wachsen erst regelmäfsig wie Kulturhefe, später wachsen sie jedoch (bei II) strahlig aus. Die Riesenkolonien bei II zeigten Dickenwachstum, bei den übrigen blieben sie flach; anfänglich weifs, werden sie später gelblich, bei II rötlich. Essigätheraroma nur bei I. Hautbildungen zwischen 10—35° C. Optimum bei 30° resp. 25° (bei IV). Sporenbildung bei 25° C. auf Gips bei III und IV vereinzelt, bei I und II häufig schon nach 13 resp. 20 Std. Höchsttemperatur für Sporenbildung 32°, niedrigste bei $2^1/_2$—5° C., Tötungstemperatur 55—60°. Gelatineverflüssigung bei I nach 1, bei den übrigen erst nach 4 Monaten.

III u. IV gären nur spurenweis,
I gärt „ in Rohrzucker, Traubenzucker u. Fruchtzucker,
II „ „ „ „ (sehr langsam aber vollständig, dagegen kaum in Fruchtzuckerlösung).

Bei den vom Verfasser angestellten Gärversuchen im hohlen Objektträger wurden 9 Anomalus-Arten auf 21 Zuckerarten geprüft: 126, 177, 197, 274, 360, 402, 434, 479, 480. Auffällig war das viele Vorkommen von Fragezeichen (zweifelhafte Gärung) bei Zuckerarten, die sonst von anderen Hefen völlig unberührt blieben, z. B. Xylose, l-Sorbose, Milch-

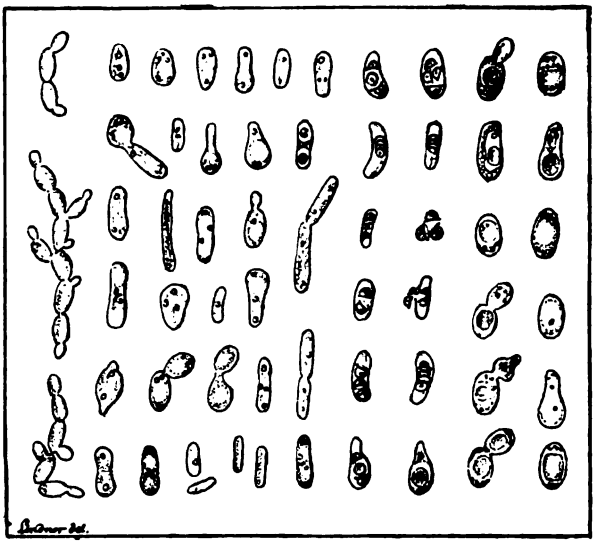


Abb. 191. Saccharomyces anomalus belgicus, Hefe 126 (Lindner). Vergrößerung 600fach. Die linke Seite zeigt uns in lebhafter Sprossung begriffene Zellen einer jungen Würzetröpfchenkultur; die weiter rechts gezeichneten sind zum Teil in einer älteren Kahmhaut, zum Teil in einer Impfstrichkultur auf Würzegelatine gewachsen; vereinzelte Zellen mit hutförmigen Sporen.

zucker, β-Methylglukosid. Es mag sein, dafs die von den Anomalus-Arten gebildete Säure hierbei von besonderem Einflufs ist.

Nach Beobachtungen des Verfassers und von Henneberg gelingt es, einzelne Arten in Rassen zu spalten, die auf Gelatine vorübergehend ganz verschieden voneinander wachsen.

Lafar hat mit einer nicht näher beschriebenen, Essigsäure und Essigäther bildenden Hefe gröfsere Versuchsreihen ausgeführt.

Wie die auf Seite 70 wiedergegebene Zeichnung von Turpin beweist, hat man derartige Hefen schon 1840 in essigsauer gewordenem Bier vorgefunden.

Die nicht Sporen bildenden, Fruchtäther erzeugenden Kahmhefen sind nicht zur Gattung Saccharomyces zu rechnen, sondern der Gattung Mycoderma unterzustellen.

Gruppe der nicht Sporen bildenden Kahmhefen.

Fischer und Brebeck haben in einer gröfseren Arbeit „Zur Morphologie, Biologie und Systematik der Kahmpilze, der Monilia candida und des Soorerregers“ folgende Arten aufgestellt:

Endoblastoderma amycoides I, II, III, IV, Gelatine nicht verflüssigend, nicht mycelbildend, nicht gärend.

Endoblastoderma liquefaciens, Gelatine verflüssigend, mycelbildend, nicht gärend.

Endoblastoderma glucomyces I, II, III, IV, mycelbildend, Gelatine nicht verflüssigend, Dextrose vergärend.

Endoblastoderma pulverulentum = Mycoderma cerevisiae varietas pulverulenta Beijerinck, Maltose und Saccharose vergärend, Gelatine allmählich verflüssigend. Auf Tafel IV B sind mehrere dieser in einem Kölbchen gewachsener Hefen als Riesenkolonien wiedergegeben.

Ob und welche von diesen Arten mit denen der Berliner Sammlung identisch sind, mufs später durch vergleichende Kulturen noch festgestellt werden.

Auch bezüglich der vier Arten (I—IV) von Laschè, die sämtlich biertrübende Fähigkeiten besitzen, gilt dies.

Nach einer Angabe von Laschè unterscheiden sich dieselben bei Kultur in Bierwürze zum Teil durch die erzeugten Alkoholmengen: 0,26—7 9% Vol.

Über die Nutzanwendung, die Beijerinck von den Kahmhefen zur Kultur anaerober Bakterien gemacht hat, siehe S. 225.

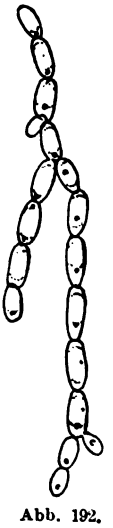


Abb. 192.
Linearer Sprofsverband einer Kahmhefe (Anomalus-Art aus Bier). Vergröfserung 600fach.

Will hat eine Kahmhefe zum Gegenstand eines eingehenden Studiums gemacht.

Schon nach 14 Tagen konnte er in den auf Würze gebildeten Häuten 2 Hauptformen von Zellen unterscheiden, von denen die eine bei ungefähr gleicher Länge mit der andern doch merklich schlanker war (2—4 μ). Diese schlanken Zellen waren in älteren Häuten vorherrschend.

Im Bodensatz sieht man dieselben Elemente wie in den Häuten, daneben aber auch, meist in grofsen Nestern vereinigt, gedrungene, elliptische Zellen von 6—7 μ Länge und 3—4 μ Breite, sowie rundliche Zellen von 8 μ Durchmesser.

Langgestreckte Sprofsverbände mit ziemlich breiten Querwänden sind keine Seltenheit; ebenso torulaähnliche Zellen.

Die Zellhaut färbt sich mit 1 %iger Osmiumsäure infolge des Fett- resp. Ölgehaltes.

Im Zellinnern sind kleine Fetttröpfchen und Öltröpfchen, oft auch Glykogen vorhanden. Die Öltröpfchen geben mit konzentrierter Schwefelsäure aber keine Grünfärbung wie die entsprechenden Gebilde bei alten Bierhefezellen; Anilinfarben speichern sie jedoch lebhaft auf.

Die in die Luft hineinwachsenden Zellen sind von einer „Lufthülle" umgeben, deren nähere Natur aber noch nicht erforscht ist. Die Riesenkolonien sind meist kreideweifs; können jedoch auf einzelnen Nährböden z. B. Sauerkrautgelatine, nur weifsgraue Farbe und glasige Beschaffenheit annehmen.

Dem entspricht auch, dafs auf Sauerkrautwasser die Häute niemals trocken aussehen, und auch in höherem Alter glatt bleiben, im Gegensatz zu den gekröseartigen Faltungen auf anderen Nährböden.

Das wichtigste Moment für die Diagnose der Kahmhefen ist das Wachstums-Maximum und -Minimum.

Bei obergärigem Bier beobachtete Will eine Entfärbung desselben durch eine Kahmhefe. Kulturversuche mit der letztern gleichzeitig mit ober- resp. untergäriger Hefe liefsen den verzögernden Einfluſs der Kahmhefe auf den Verlauf der Gärung erkennen.

Obwohl die Kahmhefe hauptsächlich für höhere Gärtemperaturen als Schädling in Betracht kommt, wurde doch auch bei niederen gelegentlich eine stärkere Vermehrung und ungünstige Einwirkung auf den Geruch und Geschmack des Bieres beobachtet. Sterilisiertes, mit Kahmhefe geimpftes, und 4 Monate bei 4,5° C. gelagertes, dabei völlig klar gebliebenes Bier roch wie frisch aus dem Erdboden hervorgebrochene Schwämme und schmeckte intensiv schimmlig. Am Boden lag ein kräftiger Belag von Kahmhefen.

Durch Kahmhäute wird der Alkohol jedenfalls in Säure umgewandelt, und wirkt diese jedenfalls entfärbend. In Sauerkrautwasser erwies sich diese Kahmhefe im Gegensatz zu Würze und Bier säureverzehrend.

Die Tötungstemperatur der Kahmhefe war 50° C., für ältere Kulturen 60°.

Verfasser hat folgende Kahmhefen zu den

Gärversuchen im hohlen Objektträger

benutzt: 66, 67, 102, 127, 153, 170, 178, 269, 374, 397, 398, 401, 471, 583.

Die meisten vergoren die Hexosen (mit Ausnahme von 66, 102, 127, 153, 374 (?), wenn auch nicht sehr kräftig, einige Inulin (66, 67, 102, 170), einige Trehalose (67, 102, 153), einige Rohrzucker (170, 178, 269), zwei Maltose, wenn auch nur in Spuren (170 und 398).

Melibiose zeigte mit 102, Raffinose mit 269, α-Methylglukosid mit 127 eine ganz schwache Gärung.

Auffallend war die auch von Steuber bereits für eine Anomalus-Art angegebene Beobachtung, dafs Rohrzucker vergoren werden kann, während Fruktose unberührt bleibt. Dieser Fall hat sich bei der Kahmhefe 178 (aus gärendem Eibischsaft von Zeidler isoliert) wiederholt.

Aufser den Kahmhefen kommen in den vergorenen Flüssigkeiten noch eine grofse Anzahl Hefen vor, die ebenfalls durch ein lebhaftes Sauerstoffbedürfnis ausgezeichnet sind. Dieselben bilden zumeist auch Decken, doch fehlt diesen das charakteristische kahmige Aussehen; die Decken sind meist feuchtglänzend, nicht matt; zum Teil nehmen sie eine schlüpfrige, zum Teil sogar knorplig feste Beschaffenheit an. Im allgemeinen fällt uns bei diesen Hefen die geringe Gröfse der Zellen auf. Wir könnten vielleicht eine Gruppe der kleinzelligen Hefen aufstellen (oder kürzer Mikrohefen). Unter ihnen besitzt eine gröfsere Zahl kugelig geformte Zellen; es sind:

Die Torulahefen oder Kugelhefen.

Es giebt einzelne Arten, welchen eine Zwischenstellung zwischen Kulturhefen sowie Kahmhefen einerseits, und den Torulahefen andererseits zukommt.

S. Delbrücki aus Alebier ist z. B. eine Hefe, die zeitweise wegen ihrer streng kugeligen Form, wegen des regelmäfsigen Auftretens je eines gröfseren Fetttröpfchens in jeder Zelle durchaus mit einer typischen Torulahefe unter dem Mikroskop verwechselt werden kann. Diese Art bildet aber echte Sporen (1 bis 2 pro Zelle), ist daher der Gattung Saccharomyces zugehörig. Mitunter bilden sich Zellen von der Gröfse der Kulturhefe aus (s. Abb. 195 und 197). — Sie vergärt nur Hexosen (vgl. Seite 194).

Nach den Erfahrungen des Verfassers giebt es eine Anzahl sporenbildender Arten, die im Aussehen an Torulahefen erinnern. So fand er eine solche im Schleimfluls einer Eiche des Berliner Tiergartens (Nr. 690), s. Abb. 198, Seite 391. Auch eine aus armenischem Mazun isolierte Torula (481), vielleicht mit S. Delbrücki identisch, erwies sich später sporenbildend.

Torula pulcherrima (s. Tafel I, Abb. 1) hat Verfasser eine Art genannt, die er sowohl auf matschigen Pflaumen, als auch auf ebensolchen Weintrauben und in den Exkrementen der Apfelmade gefunden hat. Sie bildet in frischer Würze Zellen aus, die fast an die elliptische Hefe erinnert; sobald aber die Nährlösung aufgezehrt und genügend Luft vorhanden ist, vergröfsern sich die Zellen, runden sich ab und bilden im Innern grofse, starkglänzende Kugeln (jedenfalls ein Amalgam von Fett und Plasma); aufsen bildet die Zellwand eine kaum erkennbare Schleimschicht, die den Abstand der einzelnen benachbarten Zellen bedingt. Läfst man diese Zellen in frischer Würze keimen, dann wird die

äufserste Haut abgeworfen und es entsteht eine kleinzellige Generation. Die glänzende Kugel verbleibt in der Mutterzelle, und wird kaum dabei verwertet für die Tochterzellen. Sporenbildung nicht beobachtet.

Eine andere gröfsere Torula mit aufserordentlich stark gequollenen Zellwänden fand Verfasser in einem Braunschweiger Lagerbier (Abb. 194). Der Zellinhalt war sehr zart gekörnt. Auch diese Hefe gab, wie die

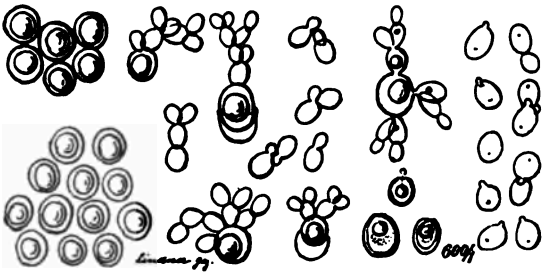


Abb. 193. Torula pulcherrima (Lindner).
Die grofsen, Perlen ähnlichen Zellen sind in einer Adhäsionskultur gewachsen; die mittlere Gruppe zeigt die Keimung solcher Zellen, die rechte die in frischer Würze vermehrte Generation.

vorige, in der Tröpfchenkultur eine wunderbar gleichmäfsige Anordnung der Zellen.

Nr. **195**, eine von Zeidler aus gärendem Met isolierte Hefe, ist eine Zwischenform zwischen Kahm und Torula; ihre Zellen sind bald

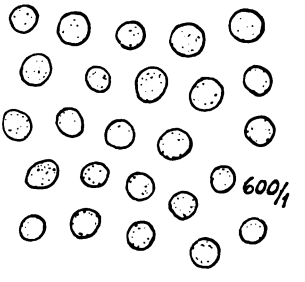


Abb. 194.
Torula aus Bier mit unsichtbaren Schleimhüllen.
Nach einer Photographie gezeichnet.

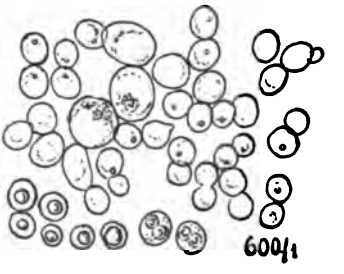


Abb. 195.
Saccharomyces Delbrücki (Lindner) aus einer Tröpfchenkultur.
Mit Riesenzellen, Fetttröpfchen und Sporen.

kugelförmig, bald langgestreckt, wie bei mycelbildenden Kahmhefen (Abb. 196); sie entwickelt in Würze einen zarten Obstgeruch, auch auf Würzegelatine; die Decken sind nicht kahmig, sondern dickschleimig wie etwa die gelblichen Massen des Oidium lactis an den undichten Pforten der Lagerfässer. Sporen sind bei dieser Hefe nicht bekannt.

Nr. **63** und **64** sind zwei Torula-Arten, deren kugelrunde Zellen oft die Gröfse der Kulturhefezellen erreichen, und auch ein nicht mehr

homogenes, sondern ein stark wolkiges Plasma führen (Abb. 197). Nr. 63 bildet eine knorplige, unter dem Deckglase schwer zu zerdrückende, feuchtglänzende, durchscheinende Decke auf der Würzeoberfläche.

63 bildet zeitweise im Impfstrich auf Würzegelatine weiche, schleimige, zeitweise knorplige Beläge; bei 64 sind dieselben stets breiig-schleimig, aber nicht zähschleimig angetroffen worden. Die Membranen der Zellen sind sehr dick und findet öfter ein Abwerfen der äufsersten Schicht statt. 63 und 64 zeigen nur selten Fetttröpfchenbildungen.

Bei den kleinzelligen Torulahefen, welche am häufigsten angetroffen werden, sind letztere dagegen auch unter normalen Bedingungen häufig, und erhält die Zelle durch sie zumeist einen starken Lichtglanz mit etwas grünlicher Tönung. Das Aussprossen der Tochterzellen kann an jeder Stelle der Membran erfolgen; oft sitzen bis zehn und mehr kleine Bläschen gleichzeitig auf einer Mutterzelle, hier eine sogenannte corona (Krone) bildend (siehe 384, 289 und 383 in Abb. 197). Für die Sprofsverbände sind zumeist die starken Unterschiede in der Gröfse der Glieder charakteristisch. Die äufsersten Zellen sind die kleinsten.

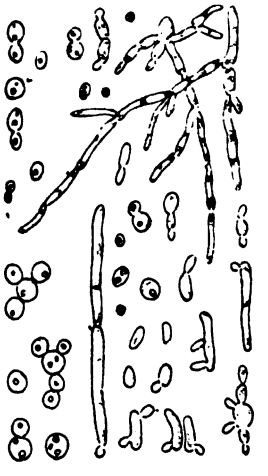


Abb. 196.
Hefe 195, aus gärendem Met. Zellformen aus einer Tröpfchenkultur.

In älteren Kulturen werden manche Zellen aufserordentlich grofs, gleichzeitig aber auch sehr hinfällig. Die mittleren Zellen der Gruppe 62 in Abb. 197 zeigen uns derartige Riesenzellen, die aber nicht mehr turgescent sind. Ein Gegenstück zu dieser Erscheinung ist die Bildung aufserordentlich kleiner Zellen, die fast mit Kugelbakterien verwechselt werden können (siehe 289 in Abb. 197). Eine Riesenzelle kann 10—20mal so grofs sein, als eine Zwergzelle. Bei Nr. 382 tritt ein Verquellen der äufsersten Hautschicht ein. Diese Hefe, von Schönfeld gefunden, giebt sehr schleimige Beläge auf Würzegelatine.

In Würzekulturen tritt anstatt der Hautbildungen nicht selten nur ein kräftiger Wandbelag auf. Auf Würzegelatine nehmen manche Riesenkolonien ein weifses, emailleartiges Aussehen an (60, 62). Oberflächenzeichnungen sind selten. Bei 60 erschienen feine Strichelungen wie bei einer Radierung. Tafel III.

Hansen hat 7 verschiedene Torula-Arten näher studiert; einige davon bilden Invertin, andere nicht. Rohrzucker wurde auch von den invertierenden Arten nicht immer vergoren. Maltose vergor keine. Eine von Grönlund entdeckte und als Torula novae Carlsbergiensis be-

zeichnete Art dagegen vergor auch diesen Zucker neben Rohrzucker und Dextrose, und bildete Invertin. Kramer fand eine rot gefärbte Torula, die Maltose und Dextrose vergor. Duclaux, Adametz und Kayser haben einige Torula-ähnliche Formen aus Milch isoliert, die Maltose, Dextrose und Galaktose zur Vergärung brachten und auch Invertin erzeugten.

Beijerincks Saccharomyces Kefyr und S. Tyricola (von Eidamer Käse) gehören vielleicht auch hierher; beide sind ausgezeichnet durch die Bildung eines Enzyms, „Laktase", welches Milchzucker invertiert.

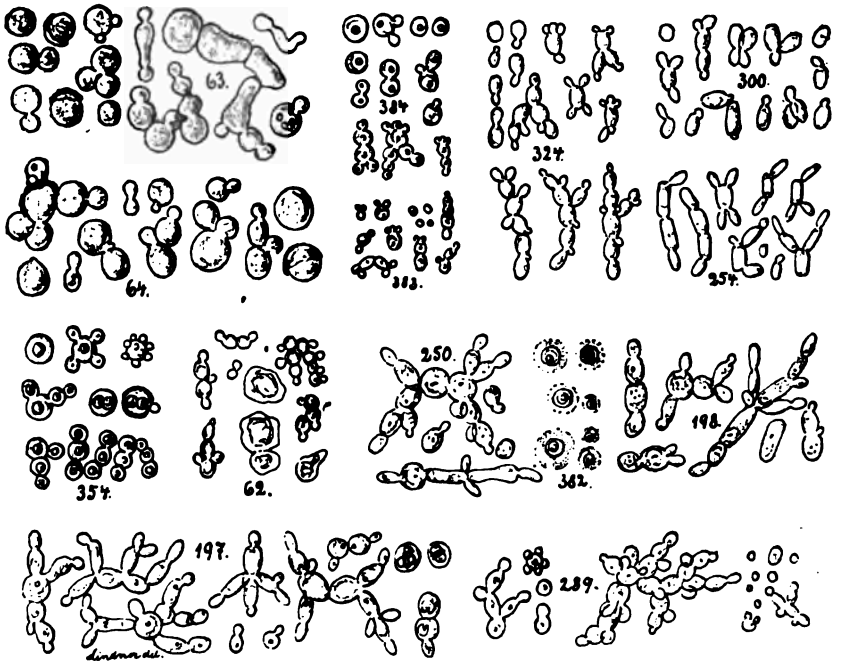


Abb. 197. Verschiedene Hefen. Vergröfserung 600fach.

63 und 64 grofszellige Torula-Arten. 384, 383, 62, 289 kleinzellige Torula-Arten. 354 Saccharomyces Delbrücki. 282 Torula mit gequollener Membran. 197 Sacch. anomalus von Grünmalz. 250 Fruchtätherhefe aus Gallengärung. 198 Torula-artige Hefe. 324 Mikrohefe aus Malzmaische, 300 aus Wasser isoliert, 254 aus Bier.

Beijerinck bewies dies unter anderem durch folgenden Versuch: Er impfte eine Fleischwasser- oder Fischpeptongelatine, welche 3% Kochsalz und 3% Milchzucker enthielt, mit dem Photobacterium phosphorescens und stellte damit eine Plattenkultur her. Auf diese zog er Impfstriche mit genannten Hefen und einer Invertin bildenden Weinhefe. Rings um die Käse- und Kefyrhefe bildeten sich schon mit bloſsem Auge bemerkbare Wachstumsfelder, welche sich im Dunkeln durch ihre hohe Leuchtkraft auszeichneten. Um den Weinhefeimpfstrich blieb es dunkel, da das Enzym derselben nicht den Milchzucker zu invertieren vermochte, und daher auch das Bakterium ungenügende Entwicklungsbedingungen fand.

Einzelne Torula-Arten besitzen an Stelle der Fetttröpfchen kleine, lebhaft bewegliche, stark lichtbrechende Körperchen, so 250 und 198. Abbildung 199 zeigt eine Torula-Art mit zellkernartigen Gebilden. In dem schon erwähnten Fall der schleirigen Trübung eines Bieres durch eine Torula waren die Zellen von dem Aussehen der Nr. 384 der Abbildung 197.

Wenn man sich Torulahefen aus dem Betrieb verschaffen will, braucht man nur von den feuchten Mauerwandungen, Holzthüren, aus den Ecken der Berieselungskühler, aus lange nicht gereinigten Schläuchen und Rohrleitungen, hinter den Bottichreifen u. s. w. etwas abzukratzen. Man wird nur selten keine Torula finden. Fast bei jeder Luft- und Wasseruntersuchung stellen sie sich ein, an jedem Grünmalzkorn vegetieren sie, in den Wurzelhauben bilden sie ganze Kolonien. Kurz die Torula-Arten sind die verbreitetsten Organismen in unseren Betrieben.

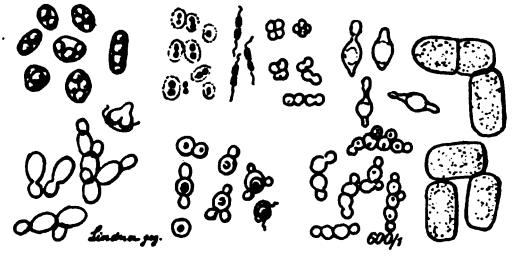


Abb. 198. Aus dem Schleimfluſs einer Eiche des Berliner Tiergartens. Links oben eine sehr sporenreiche Hefe; darunter Keimungsbilder derselben Hefe; daran rechts anschliefsend eine sporenbildende Torula; weiter eine nicht sporenbildende Torula-Art; weiter Zellen von Oidium lactis; von da nach links oben S. apiculatus, Pediococcen, bewegliche Bakterien und solche mit Schleimhüllen.

Wegen der Kleinheit eines Teiles ihrer Zellen trotzen sie fast jedem Filter. Würze bekommt durch sie oft einen weichen, pappigen Geschmack; ähnliches beobachtete Verfasser bei einem Weifsbier, das viel Torula enthielt. In einer Thüringer Brauerei, die anhaltend über schlechtes Bier klagte, war dasselbe zahlreich von der Hefe

198 bevölkert. Obwohl auch noch andere wilde Hefen vorhanden waren, scheint diese Hefe doch die Krankheit erzeugt zu haben. In Würze kultiviert, giebt diese Hefe einen kräftigen Bodensatz und eine dicke Decke; an der Glaswandung wachsen später strauchartige Figuren empor. Die Würze wird stark entfärbt. Die Riesenkolonie ist ein gelblich-grauer Kuchen. Die Zellen sind verhältnismäfsig grofs, und nicht immer kugelig; im Innern sind lebhaft bewegliche Körperchen sichtbar.

Von den Hefen der Abbildung 197 ist noch folgendes zu erwähnen:

324 ist aus einer Malzmaische isoliert, die stark mit einem antiseptischen Mittel unbekannter Zusammensetzung versetzt war.

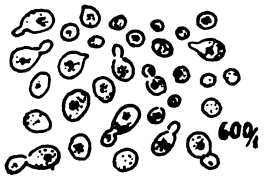


Abb. 199.
Torula-artige Hefe mit zellkernähnlichen Gebilden im Innern (aus Braunschweiger Bier). Die Abstände zwischen den Zellen durch Schleim ausgefüllt.

383 und **324** sind sehr häufig vorkommende Arten in Leitungen und an Gefäfswandungen.

300 stammt aus Wasser.

254 aus Bier; auf Gelatine erzeugt sie einen gelblichen, dickflüssigen Schleim, wie Eiercognac aussehend.

382 wurde in der Luft eines Gärkellers gefunden.

289 stammt aus einem Wasserleitungsrohr.

250 ist die schon Seite 382 erwähnte Hefe aus Gallengärung; 197 die Grünmalzfruchtätherhefe, die zu den Anomalus-Arten gehört. Sie wurde hier mit eingezeichnet, um die nahen Beziehungen der Anomalus-Arten zu den Torulahefen hinsichtlich der Zellform zu zeigen.

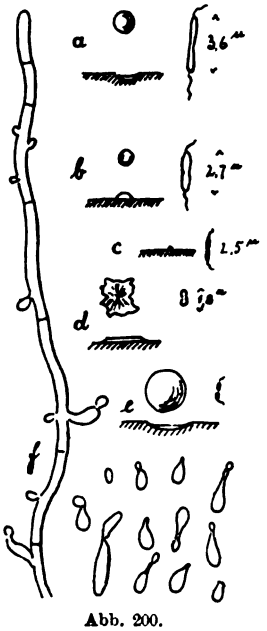


Abb. 200.
Organismen aus der Süfswasserleitung einer Kühlanlage. a bis e verschiedene Bakterien; dargestellt ist die Form der Kolonien und das Verhalten gegen die Gelatine, sowie die Zellform. f ist eine rötlich gefärbte, strahlige Kolonien bildende Mycelhefe, mit Zellformen, die an S. apiculatus parasiticus erinnern.

Sowohl 354 wie 63 und 64 zeigen in ihren Riesenkolonien mitunter einen schwach rötlichen Anflug; diese sowie Kramers rote Torula treten infolge dieser Eigentümlichkeit in nähere Beziehungen zu der nachfolgend zu besprechenden Gruppe der roten Hefen.

Hier mögen noch die Resultate einiger Gärversuche folgen:

(S. Tabelle folgende Seite.)

Gruppe der roten Hefen.

Die roten Hefen haben schon frühzeitig die Aufmerksamkeit der Botaniker und Bakteriologen auf sich gezogen. Sie wurden häufig auf Stärkekleister angetroffen (daher die Bezeichnung Saccharomyces glutinis), auf dem sie kleine rote Kolonien bilden. In Brauereien, namentlich in den kalten Kellern, sind sie überaus häufig. Verfasser hat in einer Luftprobe aus einem Lagerkeller in einem Fall ausschliefslich Kolonien von roten Hefen erhalten. Neben den roten Hefen bilden auch die gelben Sarcinabakterien einen charakteristischen Bestandteil der Vegetation kälterer Räume. Dieselben Organismen sollen auch im hohen Norden

Gruppe der Torula- und roten Hefen.

Nummer in der Sammlung	Bezeichnung der Reinkultur	Glukose	Fruktose	Maltose	Rohrzucker	
62	Wismar, Lagerkeller; kleine Torula	—	—	—	—	Hefen 62, 68 und 72 sind noch ausgesäet worden in Milchzucker, d-Mannose, Galaktose, Dextrin, Inulin, Trehalose, Melibiose, Raffinose, Xylose und α-Methylglukosid, haben aber überall keine Spur von Gärung gezeigt.
68	Eisleben, Torula	—	—	—	—	
253	Torula aus Rohrleitung	2	2	—	1	
288	Torula	?	?	—	—	
300	Kleine Hefe aus Kühlwasser . . .	—	—	—	—	
518	Torula δ.7 (durch Sauer)					
380	Kleine Hefe, Braunschweig . . .	1	3	?	—	
72	Rote Hefe aus Bier	—	—	—	—	
73	„ „ Prenzlau, Lagerkeller .					
317	„ „ aus Luftfilter					
645	„ „ (Rommel)					

ziemlich häufig anzutreffen sein. Bei einzelnen roten Hefen hat man Sporenbildung beobachtet. Die in Abb. 201 gezeichneten roten Hefen sind nicht sporenbildende Arten. 74 giebt gelblich-rote Riesenkolonien, 73 siegellackrote; die Farbe von 72 steht in der Mitte zwischen den vorigen. 290 und 317 geben blafsrote Kolonien mit schwach mehligem Anflug. 317 hat sich in der Kultur immer durch die Ausbildung von zarten, weifsen Lufthyphen von 290 unterschieden. Sofern man nur den Glaskolben einmal umdreht, fallen die oberflächlichen Zellen von der Kolonie ab und bilden im Umkreise derselben nach dem Niederfallen neue Kolonien. In Würze- und Dextroselösungen wachsen beide bei genügendem Luftzutritt ununterbrochen langsam weiter, bis die ganze Flüssigkeit eine rote, fast lachsfarbene Pilzmasse darstellt. 290 wurde von Windisch gefunden in Würzeproben, die eine starke Dosis Formaldehyd bekommen hatten.

317 fand Verfasser bei Untersuchung eines Luftfilters.

Jedenfalls mit einer dieser Arten identisch ist Blastoderma salmonicolor (Fischer und Brebeck), die gelegentlich einer Planktonexpedition etwa 35 Seemeilen südlich von der Azoreninsel San Miguel aus einer von der Meeresoberfläche geschöpften Wasserprobe isoliert wurde.

Charakteristisch für diese letzte Arten ist das Auswachsen der Zellen zu dünnen Ausläufern, an deren Spitze nierenförmige Zellen (Conidien) abgeschnürt werden. Da diese letzteren zumeist aufserhalb der Flüssigkeit gebildet werden, erscheinen sie bei der Kultur im hängenden Tropfen aufserordentlich stark glänzend.

Ähnliche Formen hat Laschè aus der Luft und von Hopfenblättern erhalten und als Mycoderma rubrum und M. humuli beschrieben.

Diese bilden endogene Sporen und verflüssigen Gelatine; Maltose, Dextrose und Rohrzucker werden nicht vergoren.

Eine orangefarbene Hefe fand Kalanthar in armenischem Mazun. Verfasser stellte bei der Reinzüchtung derselben aus einer Zelle in der Tröpfchenkultur fest, dafs in den ersten beiden Tagen die Zellen untereinander in weiten Abständen sich halten (Abb. 203) — offenbar infolge einer allerdings unsichtbaren Schleimschicht, welche die Zellwände aufsen

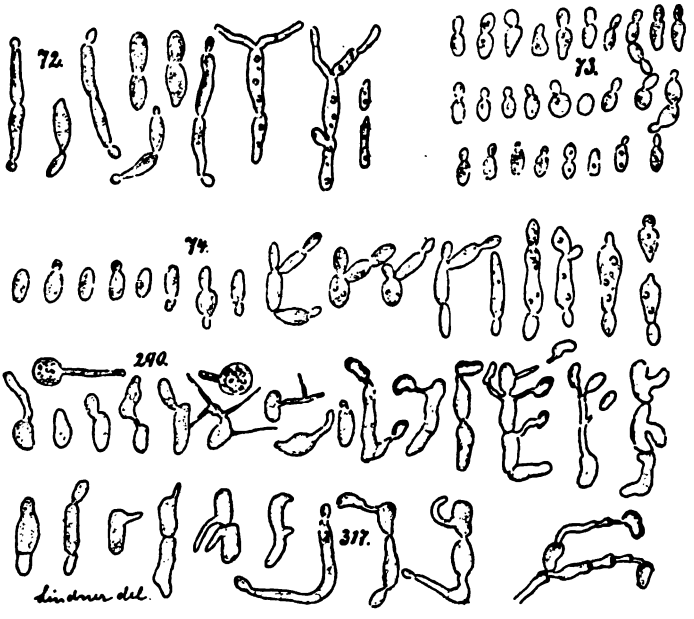


Abb. 201. Keimungsbilder mehrerer roter Hefen. Nr. 72, 73, 74, 290, 317. Vergrößerung 600fach.

bilden. Am 3. und 4. Tag sieht man innerhalb dieser Grenzen die Nachkommenschaft reihenweise nebeneinanderliegen.

Auch dunkel gefärbte Hefen giebt es. So wurde schon im Kochschen Laboratorium eine solche als beliebtes Demonstrationsobjekt in Reinkultur gehalten. Später wurde dem Verfasser von Zeidler aus Moskau eine von ersterer verschiedene schwarze Hefe zugesandt, welche unter dem Mikroskop aus elliptischen Zellen von ca. 6 μ Längendurchmesser bestand. Auf Würzegelatine wuchs sie im Gegensatz zu der vorigen mit feuchter, gekröseartig gefalteter Oberfläche, auf der nur später eine spärliche Wolle sich entwickelte. In der Tröpfchenkultur erscheinen fädige Elemente gar nicht.

In einer letzten Gruppe fassen wir solche Hefen zusammen, die in unseren Betrieben selten oder gar nicht angetroffen werden, die aber gleichwohl nicht ohne wissenschaftliches Interesse sind.

Zunächst sei eine Hefe erwähnt, die bei dem Wachstum auf Würzegelatine eine schwach grünliche Färbung zeigte. Sie wurde von Kalanthar in armenischem Mazun gefunden und vom Verfasser näher untersucht (Nr. 496).

So sind Saccharomyces Bailii, Hefe Nr. 370 und 570, ausgezeichnet durch ihr Vermögen, in hochkonzentrierten Zuckerlösungen zu vegetieren. Die Hefe 370 fand Verfasser in ganz konzentriertem (70° Balling) sizilianischen Traubenmost, der in Gärung geraten war. Isoliert wurde sie von Wolff. Sie bildet auf Gelatine mehlige Beläge, deren Zellen fast sämtlich schöne glänzende Sporen erzeugen. In den Präparaten fällt uns eine Menge Zellen mit dreschflegelähnlichen Ansätzen auf, wie

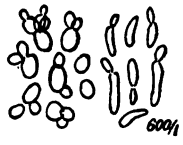


Abb. 202.
Zwei Hefen aus den Kätzchenblüten einer Weide. Die rechte Hefe färbt sich in der Kultur schwach rötlich.

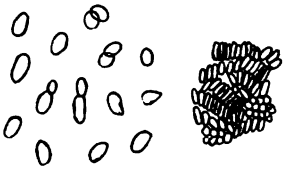


Abb. 203.
Orangehefe aus Mazun; zeigt wie das Dematium in der Tröpfchenkultur Zellwandverschleimung; später verschwindet der Schleim wieder und die Zellen rücken dicht aneinander (Gruppe rechts). Vergr. 600fach.

Abb. 204.
Hefe 370 aus konzentriertem sizilianischen Traubenmost.
Links Keimungsbild; rechts Zellen mit Sporen.

sie auch S. farinosus zeigt. Die Hefe 370 vergärt Maltose, aber nicht Rohrzucker. Vgl. Seite 196.

Saccharomyces Bailii, nach dem Danziger Naturforscher Bail benannt, wurde vom Verfasser aus Danziger Jopenbier gleichzeitig mit dem S. farinosus isoliert. Die Würze für das Jopenbier ist sehr konzentriert (50° Balling). Die Hefe bildet grofse, kräftige, ziemlich derbwandige Zellen von etwas langgestreckter Form; das Plasma ist zumeist homogen und glänzend, selten von vielen Körnchen durchsetzt. Mit Jod erhält man in sehr vielen Zellen eine starke Glykogenreaktion. Die Sporen sind ebenfalls stark lichtbrechend, glänzend und fast körnerfrei. In Würze ausgesäet, treten nur spurenweise Gärungserscheinungen zu Tage; die Hefe entwickelt sich hauptsächlich am Boden und bleibt dort ruhig liegen. Die Hefenernte ist dementsprechend nicht sehr stark. Bei längerer Kultur in Würze wird diese schwach parfümiert. Eine Hautbildung trat selbst in 5 Monate alten Kulturen nicht ein. Nur ganz sporadisch liefs sich eine Inselkolonie entdecken. Auf Würzegelatine wächst die Strichkultur langsam zu einem grauweifsen, glänzenden

und scharf begrenzten Belag aus. In älteren Kulturen finden sich auch Sporen und amöbenartige Zellformen. (Siehe Abb. 159, Seite 330.)

Im Impfstich zeigt die Hefe eine geringe Neigung zur Bildung seitlicher Strahlen. In Traubenzuckergelatine wird ein normales Auswachsen der Strichkultur verhindert durch die frühzeitige Entwicklung von Kohlensäureblasen, die ein vollständiges Zerklüften der Gelatine herbeiführen.

Bei Gärversuchen im hohlen Objektträger vergor sie nur Dextrose und Fruktose.

In Riesenkolonien auf Würzegelatine findet wie beim Impfstich nur ein langsames Wachstum statt.

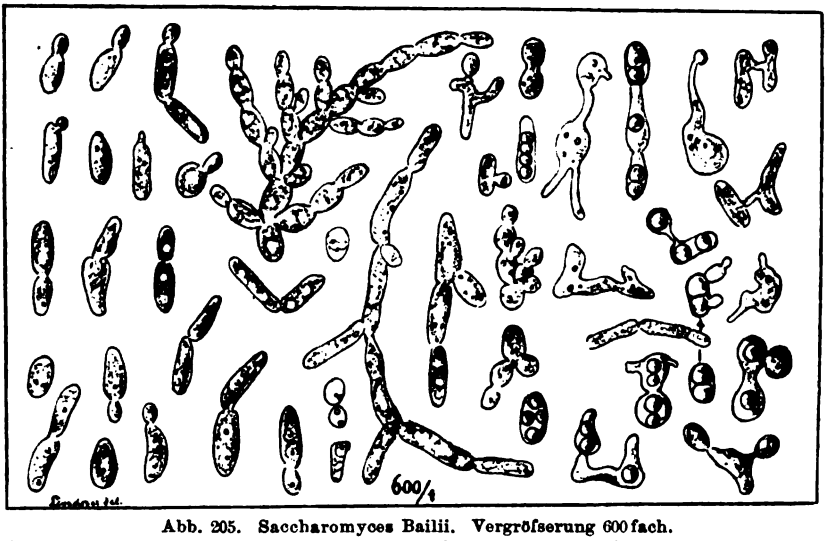


Abb. 205. Saccharomyces Bailii. Vergrößerung 600fach.
Die linke Seite stellt einzelne und in Sprofsverbänden befindliche Zellen einer jungen Kultur in Würze dar; die rechte Seite, mit Ausnahme der rechts von der Mitte befindlichen, an Saccharomyces conglomeratus erinnernden Zellgruppe, zeigt Bilder aus einer 22tägigen Impfstrichkultur auf Würzegelatine. Die Pfeilspitze weist auf eine Zelle mit zwei auskeimenden Sporen. Die quer über dem Pfeil liegende Zelle zeigt eine scharfe Querwand.

Die Kolonie bleibt im Vergleich zu normalen Hefen auffallend klein. Ihre Oberfläche ist glänzend und grauweifs wie im Impfstich. Eine Verflüssigung der Gelatine tritt nicht ein.

Die Sporenbildung vollzieht sich anscheinend mit Vorliebe in anormal gebauten Zellen.

Die Sporen sind stark glänzend und enthalten entweder gar keine oder nur sehr wenige Körnchen eingeschlossen; die Zellwand ist ziemlich derb.

Abbildung 211 zeigt eine Hefe aus amerikanischem Steambier (San Francisko), Abbildung 209 die Hefe Logos (vgl. Seite 204), Abbildung 208 eine Hefe aus russischem Bier (vgl. Seite 196).

Saccharomyces exiguus (Hansen) ist eine kleinzellige, sporenbildende Hefe, welche häufiger im Bier vorkommt (Abb. 210), vergärt etwas Dextrin, die Hexosen und Rohrzucker, aber nicht Maltose.

Saccharomyces apiculatus (Rees.) Diese Hefe ist ziemlich scharf charakterisiert durch die polare Zuspitzung, welche den Zellen ein citronenförmiges Aussehen giebt. Die Sprossung findet immer nur

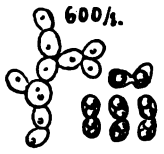


Abb. 206.
Hefe 570 aus Zuckerrohrmelasse.

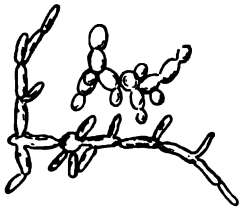


Abb. 207.
Keimungsbilder von zwei nicht näher bestimmten Hefen aus Danziger Jopenbier.

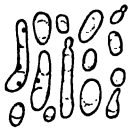


Abb. 208.
Zellformen der Kissley-schtschi-Hefe Nr. 461.

an den Polen statt (siehe Abb. 198, 212, 213). Nach Beijerinck werden in der freien Natur auch Sporen angelegt; in den Kulturen wurde bisher diese Bildung noch nie beobachtet. Diese Hefe ist auf allen süfsen Früchten häufig. Im Herbst kann sie auch die Kühlschiffe stark infizieren; während der Gärung stirbt sie jedoch zum grofsen Teil

Abb. 209.
Keimungs- und Sporenbilder der Hefe Logos.
Vergröfserung 600fach.

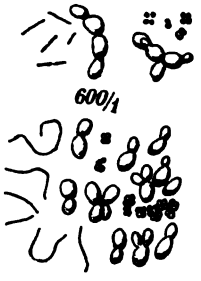


Abb. 210.
Saccharomyces exiguus-ähnliche Hefe aus einem den Sommer über im Brunnen aufbewahrten Hefengut, mit Milchsäurebakterien und Pediococcen. Die untere Gruppe zeigt das Wachstum in frischer ungehopfter Würze.

ab, nachdem sie vorher die Thätigkeit der Kulturhefe etwas beeinträchtigt hat. Hansen hat festgestellt, dafs die Hefe in der Erde unter Obstbäumen vorwiegend anzutreffen ist, und auch dort überwintert. Selbst drei Jahre hindurch bleibt sie in dem Erdboden lebensfähig. Maltose vergärt sie nicht, dagegen Dextrose. Invertinbildung fehlt. Auf unreife Früchte gebracht, geht sie schnell zu Grunde.

Verfasser fand, dafs sich bei der Züchtung einer gröfseren Quantität dieser Hefe in dextrosereicher Würze bei reichlicher Durchlüftung Fruchtäther bildeten. Kayser hat eine ähnliche Beobachtung gemacht. Amthor und Will haben verschiedene Apiculatusrassen angetroffen: letzterer Autor auch solche, die in Würze einen eigentümlich schimmelig-muffigen Geruch erzeugten. — Vgl. auch Seite 196, Nr. 99 und 606.

Will fand den S. apiculatus häufiger der Bierhefe beigemengt; in getrockneter Hefe blieb er über 7 Jahr lebensfähig. Aus 10jährigen Konserven ging der Apiculatus nicht mehr an.

Über die vom Verfasser gefundene parasitisch lebende Apiculatushefe siehe Seite 82.

Saccharomyces cartilaginosus (= knorplig) nennt Verfasser eine von Matthes aus Kefyr isolierte Hefe, die im Gegensatz zu den bisher darin gefundenen Arten Sporen bildet (Abb. 214). Sie gärt in Würze und erteilt derselben einen etwas rauchigen Geschmack, bildet ähnlich wie

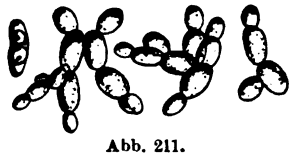


Abb. 211.
Hefe aus Steambier isoliert. Links: sprossend; rechts: Zelle mit Sporen. Vergröfserung 600fach.

Abb. 212.
Saccharomyces apiculatus mit sporenähnlichen Gebilden. (Aus einer Adhäsionskultur.)

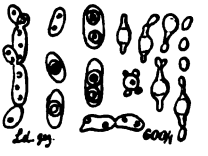


Abb. 213.
Hefen aus Leipziger Met. Links S. hyalosporus mit Sporen; in der Mitte eine Torula; rechts S. apiculatus Nr. 606.

S. Pastorianus III stark gekröseartige Riesenkolonien und Strichkulturen. Das Plasma ist eigentümlich körnig. Auf der Würzeoberfläche bilden sich nach Wochen scharf begrenzte kleine Inselkolonien von ziemlich derber, fast knorpliger Konsistenz. Ein Verschmelzen der vielen Inseln zu einer einzigen Schicht tritt nicht ein. Die Bodensatzhefe ist flockig; Milchzucker wurde nicht vergoren, dagegen Rohrzucker und Maltose. Vgl. Seite 196.

Saccharomyces fragilis, ebenfalls aus Kefyr isoliert, beschrieb neuerdings Jörgensen. Die Art hat zarte Zellwände und bildet länglichrunde Sporen; vergärt Milchzucker. Optimumtemperatur 30° C.

Saccharomyces Hansenii (Zopf) ist eine in Würze- und Zuckerlösungen nicht gärende Art. Mit ihrer Vegetation ist aber ein zahlreiches Auftreten von Krystallen des oxalsauren Kalkes verknüpft, ähnlich wie bei manchen Schimmelpilzen, z. B. Botrytis cinerea. Diese Art bildet Sporen; sie wurde im Baumwollensaatmehl entdeckt.

Saccharomyces acidi lactici (Grotenfelt) bewirkt in sterilisierter Milch eine starke Gerinnung bei gleichzeitiger Milchsäurebildung.

Saccharomyces minor (Engel) ist bei der Brotgärung gefunden worden.

Saccharomyces Marxianus (Hansen), vgl. Seite 196, und Saccharomyces Joergensii (Lasché) sind kleinzellige, sporenbildende Formen, welche Dextrose und Saccharose, aber nicht Maltose vergären.

Saccharomyces Zopfii (Artari), Abb. 215, wurde von Zopf im Safte von Zuckerfabriken neben der Schleimbakterie Leuconostoc mesenterioides gefunden. Die Hefe wächst am besten bei 28—29° C., hört auf zu

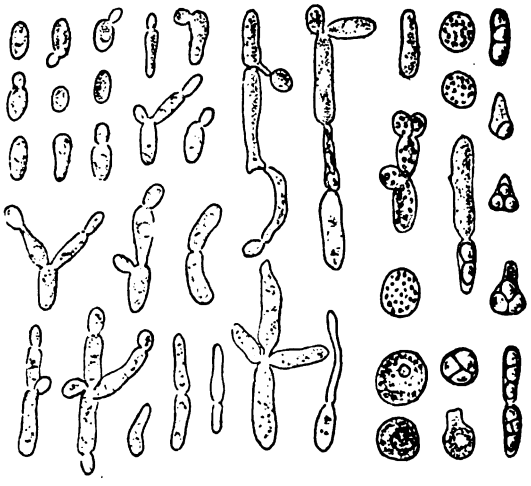


Abb. 214. Saccharomyces cartilaginosus, sporenbildende Hefe aus Kefyr. Vergrößerung 600fach.
Links: Zellen aus einer jungen Kultur in Würze; rechts: Zellen mit Sporen aus einer älteren Kultur.

wachsen bei 33—34° C. und stirbt bei 67° C. ab, während Leuconostoc noch 87—88° verträgt. Auch bei 130—135° C. können die trocknen vegetativen Zellen lebend bleiben, sofern nur 5 Minuten lang auf dieser Temperatur gehalten wird. Die Hefe vergärt nur Trauben- und Rohrzucker. In 50%iger Lösung des letzteren trat noch eine starke Gärung auf.

Saccharomyces Ilicis, Aquifolii sind 2 von Grönlund auf den Früchten des Stechapfels gefundene Hefen, welche mehlige Beläge in den Gelatinekulturen liefern. Die erstere Art giebt der Würze einen unangenehm bitteren, die letztere einen unangenehm süfsen Geschmack.

Saccharomyces Ludwigii (Hansen) wurde im Schleimfluſs lebender Bäume von Ludwig entdeckt; die Hefe bildet Querwände, welche später sich spalten und so einen Zerfall der Zelle bewirken.

Abb. 215.
Saccharomyces Zopfii (Artari).
Sprossende u. sporenbildende Zellen.
Die Sporen wurden in einer zwei Monate alten Kultur auf Würzegelatine gefunden.

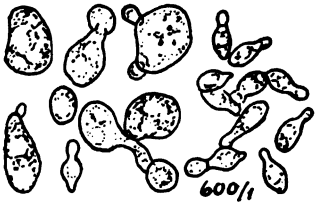


Abb. 216.
Saccharomyces Ludwigii (Hansen).
Links Riesenzellen aus einer Tröpfchenkultur.

Indem die junge Membran sich kugelig vorstülpt, entstehen flaschenförmig aussehende Teilzellen (Abb. 216). Dieser Pilz bildet ein Zwischenglied zwischen den Sprofshefen und den Spalthefen. Bei der Keimung der Sporen bildet sich erst ein kurzer Keimfaden, von welchem nach und nach neue Hefenzellen durch Querwände abgeschnürt werden. Jene vermehren sich wieder durch Sprossung und nachherige Spaltung. Durch Auswahl bestimmter Kolonien erhielt Hansen bald Vegetationen, denen die Fähigkeit, Sporen zu bilden, abging, bald auch solche, die nur mäfsig, oder solche, die zahlreich Sporen bildeten. Maltose wird nicht vergoren, aber Dextrose und Saccharose, welch letztere invertiert wird. Die Sporenbildung kann schon während der Gärung eintreten. Vgl. Seite 196.

Saccharomyces Cornesii (Covara) ist eine der vorigen nahestehende Art, die parasitisch auf Stengeln und Scheiden der Hirse lebt.

Die Gruppe der Spalthefen.

Die Spalthefen stammen sämtlich aus wärmeren Klimaten und sind an höhere Gärtemperaturen gewöhnt. Morphologisch stehen sie einander aufserordentlich nahe, so dafs sie eine eigene Gattung bilden; von allen dreien, S. Pombe, octosporus uud mellaceï, ist bekannt, dafs sie Bierwürze weiter vergären als unsere gewöhnlichen Kulturhefen, weil sie auch das Dextrin angreifen. Nur die Hefe Logos, die zu den Sprofshefen gehört, kommt ihnen hierin gleich resp. übertrifft sie gelegentlich noch.

Die Glukose, Fruktose, Maltose, Raffinose und α-Methylglukosid vermögen sie alle drei zu vergären, Arabinose, Rhamnose, Sorbose, Trehalose, α-Glukoheptose, Milchzucker, Melibiose, die Tagatosen und β-Methylglukosid greifen sie nicht an. Die Octosporushefe unterscheidet sich aber von Sch. Pombe und mellaceï sehr markant dadurch, dafs sie Galaktose angreift, dagegen Inulin und Rohrzucker unvergoren läfst. Zwischen Sch. Pombe und mellaceï besteht nur eine kleine Divergenz in Bezug auf die d-Mannose, welche von letzterer vergoren wird, von ersterer nicht.

Leider fehlte mir zur vollständigen Charakterisierung der Spalthefen noch der von Eykmann aus der Arrakgärung isolierte Sch. asporus, von dem bekannt ist, dafs er den Rohrzucker invertiert und vergärt. Von dem Sch. Pombe und mellaceï unterscheidet er sich aber durch das Fehlen der Sporenbildung.

Schizosaccharomyces Pombe wurde im Vereinslaboratorium zuerst von Saare in Pombe, d. i. Negerbier, Hirsebier, beobachtet und von Zeidler ebendaselbst unter Mitwirkung des Verfassers aus dem stark bakterienhaltigen Bier isoliert. Diese Hefe stellt in morphologischer Hinsicht einen durchaus eigenartigen Typus dar; sie kann füglich als Spalthefe bezeichnet werden. In der Form der Zellen ergiebt sich eine ziemliche Übereinstimmung mit dem Oidium lactis oder manchen Kahmhefen (vgl. Abb. 216e, Seite 367); sie sind cylindrisch, an den Enden abgerundet und in der Gröfse sehr schwankend. In erschöpfter Nährlösung werden die Zellen immer kürzer, bis sie schliefslich die Länge gewöhnlicher Bierhefezellen erreichen. In diesem Zustande wäre bei oberflächlicher Betrachtung eine Verwechslung damit nicht unmöglich. Der Spaltung einer Zelle geht das Auftreten einer Querwand voraus, die sich sogleich von aufsen nach innen zu teilen beginnt. An der Trennungsstelle ist die natürlich noch sehr zarte Haut für einen von innen kommenden Druck sehr nachgiebig; die Membran wölbt sich stark vor und wächst zu einem Schlauch aus, bis die Gröfse der ursprünglichen Zelle ungefähr erreicht ist. Für die erste Zeit ist das neue Stück gewöhnlich etwas dünner als das alte, später gleicht sich dieser Unterschied aber aus, und es bleibt nur noch an der Übergangsstelle ein ringförmiger Absatz erkennbar. Unter gewissen Bedingungen, so bei beschränktem Luftzutritt, kann man ein Auswachsen mancher Zellen zu sehr langen Schläuchen beobachten, in denen dann eine Anzahl Querwände zum Vorschein kommen, ohne dafs jedoch sogleich ein Zerfall in ebensoviele Teilstücke eintritt. Bei dem Auseinanderbrechen zweier Teilstücke bleiben diese vielfach noch an einem Punkte, um den sie sich wie um ein Scharnier drehen, in Verbindung.

Die Querwände nehmen ihre Entstehung gewöhnlich in der Mitte der Zelle, können aber auch ganz unregelmäfsig verteilt sein; ausnahmsweise sind sie auch schief angelegt. Da, wo Seitenäste abgehen, kann es ferner vorkommen, dafs eine Querwand auf einer andern schräg aufsitzt.

Die beiden Enden einer Zelle haben zumeist ein verschiedenes Aussehen: das eine Ende ist abgerundet, das andere von einem scharf gezeichneten Ring, welcher das neugebildete und schon kegelförmig aufgetriebene Membranstück einfafst, umgeben. Mitunter fallen uns im Präparat Zellen auf, die fast wie Hanteln aussehen; diese sind aus Gliederzellen hervorgegangen, die beiderseits von Querwänden begrenzt

waren. Nach der Trennung haben sich dann die beiderseitigen Endflächen gleichzeitig hervorgewölbt. Ist die Zelle nur von einer Querwand begrenzt gewesen, so bildet sich später auch nur einseitig eine solche kugelige Anschwellung. Das Ganze sieht dann wie ein Pistill aus. Eine namentlich zur Zeit der Sporenbildung nicht seltene Form der Zellen erinnert an ein Wiegemesser.

Was den Zellinhalt angeht, so zeigt derselbe zumeist eine homogene oder feinkörnige Beschaffenheit mit stellenweiser Anhäufung von Körnchen. In den oidiumartigen Zellen befinden sich durchweg nur zwei solcher Körnchengruppen, und zwar nahe an den Polen. Vor dem Auftreten von Querwänden beobachtet man hin und wieder das Ansammeln solcher Körnchen zu einer mehr oder weniger dicken, ziemlich stark lichtbrechenden Schicht, in deren Mitte dann plötzlich eine deutliche Membran sich zeigt.

Die Sporenbildung tritt verhältnismäfsig leicht bei dieser Hefe auf, sogar schon im hängenden Würzetropfen, wenn die vegetative Vermehrung zum Stillstand gekommen ist. In einem Falle zeigten sich nach 7 Tagen die ersten Sporen, nach 9 Tagen waren sie schon sehr zahlreich vertreten. Auf Gips wurden selbst nach 3 Tagen noch keine Sporen gefunden, der Gipsblock ist hier keine geeignete Unterlage für die Sporenkultur. Bei einer 15 Wochen alten Gelatinekultur hatten im Bodensatz der verflüssigten Gelatine ca. 15 % der Zellen Sporen gebildet. Besonders hervorgehoben mufs werden, dafs noch in der gärenden Flüssigkeit, sei es Würze oder Dextroselösung, am Ende der Hauptgärung im Bodensatz die Sporenbildung schon einsetzt. Die Zahl der Sporen wechselt zwischen 1—4. Auffällig ist die Erscheinung, dafs in solchen Vegetationen, die im Würzetröpfchen von einer einzigen Zelle ihre Entstehung genommen haben, die Sporenbildung oft in gruppenweis zusammenliegenden Zellen sich vollzieht. Die Auskeimung der Spore beginnt mit einer Anschwellung und mit der Bildung eines Keimschlauches von beinahe gleicher Dicke. Die Sporenhaut wird bei der Keimung nicht gesprengt, sondern geht ohne weiteres an der betreffenden Stelle in die neue Haut über. Sobald der Keimschlauch ungefähr die Länge einer gewöhnlichen vegetativen Zelle erreicht hat, teilt er sich durch eine Querwand und zerfällt in zwei Hälften. Die Mutterzellmembran wird meist auseinandergesprengt; in anderen Fällen treten jedoch die Sporen schon bevor sie anschwellen durch eine Öffnung aus. In den Wiegemessern ähnlichen Zellen verteilen sich die Sporen gewöhnlich so, dafs das Mittelstück frei von Sporen bleibt. Die Sporen sind gewöhnlich stark glänzend.

Wie bei S. octosporus fand Beijerinck auch bei dieser Hefe auf Würze-Agar braun und weifs gefärbte Kolonien vor. Auch gelang ihm noch eine anderweitige Spaltung der Hefe in 2 Rassen, wovon die eine

mehr Sporen bildet als die andere. Beijerinck fand, dafs sie sich mit Jod schwach blau färben.

Bierwürze gewöhnlicher Konzentration, welche durch Frohberghefe bis etwa 70% scheinbar vergoren wurde, kam durch die Pombehefe auf

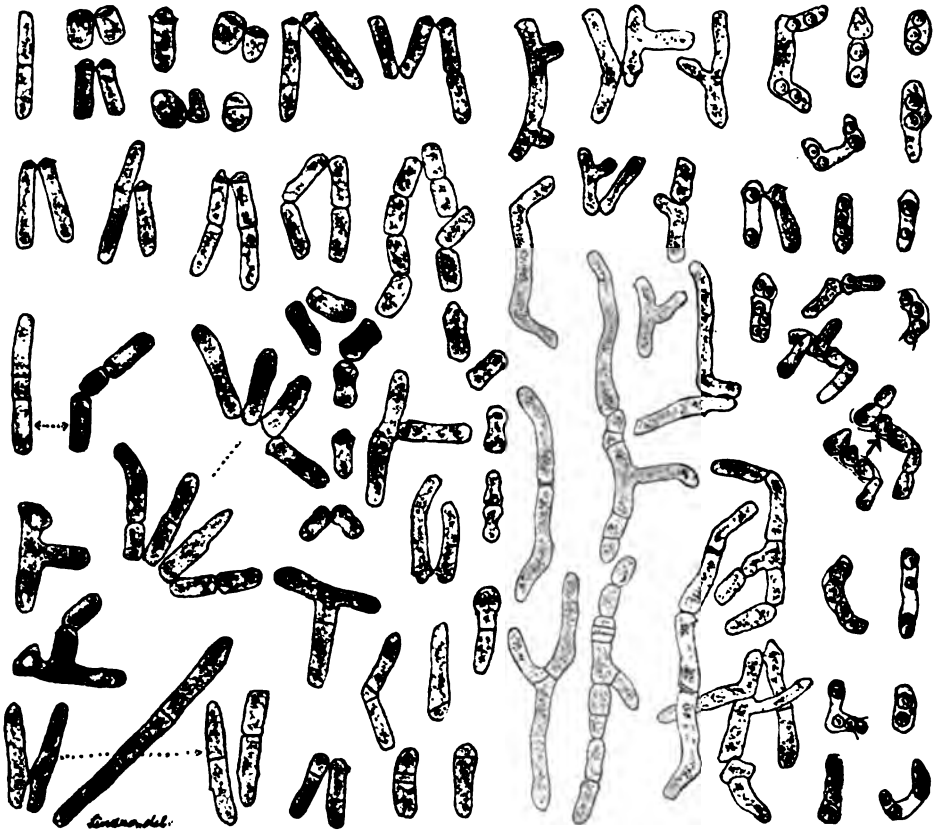


Abb. 217. Schizosaccharomyces Pombe. Vergröfserung 600fach.

Die linke Seite der Zeichnung stellt Vegetationen aus Würze dar, zum Teil in verschiedenen Entwicklungsstadien. Die oidiumartigen, in einer Kette lose zusammenhängenden Zellen stammen aus einer bereits erschöpften Kultur. Die rechte Seite zeigt uns eine gröfsere Anzahl sporenführender Zellen, zum Teil in dem Stadium des Auskeimens der Sporen. Die durch Pfeile verbundenen Gruppen gehören zusammen. Das vorgeschrittenere Entwicklungsstadium ist ohne weiteres erkennbar. Die Zellen sind zum Teil aus Gelatinekulturen entnommen. Die nach links sich anschliefsenden, fadenförmig ausgewachsenen Zellen sind in einem Würzetropfen, der zwischen Objektträger, Deckgläschen und Vaselinring eingebettet worden war, herangewachsen.

84. Die Hefe vergärt also noch einen Teil des Dextrins. Das Bier hatte einen unangenehmen Geruch und Beigeschmack. Am Boden setzt sich eine gleichmäfsig dicke Hefenschicht ab. Hefenernte mäfsig. Hautbildungen wurden weder auf Wüze noch auf verflüssigter Gelatine beobachtet. —

Nach Versuchen von Rothenbach wurde eine 20%ige reine Malzwürze, welche frei von Diastase war, bis auf 2,2% Balling vergoren, wogegen die Brennereihefe Rasse II und Hefe Frohberg nur bis 3,5 und 4% kamen. Eine gekochte Maische aus Malz, Kartoffelstärke und Rohrzucker wurde von 27,7% Balling auf 1,6% vergoren und enthielt dann 15,5 Vol.-% Alkohol. In Kartoffelmaischen wurde eine mehr rundliche Ausbildung der Zellformen beobachtet.

Die günstigste Gärtemperatur liegt zwischen 31—37° C. Die Hefe erzeugt ziemlich beträchtliche Säuremengen und verträgt einen hohen Alkoholgehalt, ohne dafs sie sogleich geschwächt wird.

In 13—14%igen Würzen sind am Schlufs der Gärung 0,3—0,4 ccm N. N., in 20%igen 0,5 ccm N. N. und in 30%igen 0,7—0,9 ccm N. N. zur Neutralisation von 20 ccm erforderlich gewesen.

Bei den hohen Temperaturen stellen sich auch obergärige Decken ein. Bei gewöhnlicher Temperatur ist davon nichts zu bemerken.

In einer argentinischen Brennerei ist die Pombehefe mit sehr gutem Erfolg angewendet worden.

Auf Würzegelatine im Impfstrich bildet die Spalthefe einen kompakten, auf der Oberfläche aber etwas fein gerieften Belag; ähnlich ist die Beschaffenheit desselben in einer sogenannten Riesenkolonie.

Schizosaccharomyces asporus nennt Beijerinck eine von Eykmann und Vordermann in der Melasse-Arrakgärung beschriebene, nicht sporenbildende Form, welche mit S. Pombe morphologisch sonst sehr nahe übereinstimmt. Hier gelang es, auf Würze-Agar ebenfalls braune und weifse Kolonien zu erhalten, von denen die letzteren stets an grofsen, ascusähnlichen Zellen reich waren. Die Hefe vermag Rohrzucker zu invertieren und zu vergären, im Gegensatz zu S. octosporus.

Schizosaccharomyces mellacei nennt Jörgensen eine von ihm und Holm näher untersuchte, von Greg aus einer Rumgärung auf Jamaika isolierte Art, die nach den gegebenen Abbildungen mit der Pombehefe aufserordentliche Übereinstimmung zeigt. Ihre Sporen färben sich mit Jodjodkalium blau. Über Endvergärung und andere wichtige physiologische Merkmale fehlen Angaben. Eine direkte eingehendere Vergleichung mit der Pombehefe scheint nicht angestellt worden zu sein.

Das Verhalten gegen die Zuckerarten siehe Seite 196.

Schizosaccharomyces octosporus (Beijerinck), eine achtsporige Alkoholhefe,

gehört ebenfalls in die vom Verfasser aufgestellte neue Gattung Schizosaccharomyces, unterscheidet sich aber von der Pombehefe durch die massenhafte Sporenbildung und die ziemlich regelmäfsig auftretende

Achtzahl der Sporen. Gefunden wurde diese Hefenart auf älteren Korinthen von Zante, dann auch auf Feigen. Auf Datteln und Rosinen fehlte sie stets, ebenso auf den Früchten nördlicherer Gegenden und in den Schleimflüssen unserer Bäume. Als Bewohner wärmerer Gegenden können die vegetativen Zellen wie die Sporen des Octosporus höhere Temperaturen vertragen als die der gewöhnlichen und selbst der Weinhefen. Erst oberhalb 20° C. ist das Wachstum ein merkliches. Askosporen können bis 115° C. trocken erhitzt noch lebensfähig bleiben.

In Würze wie auf Gelatinekulturen verwandelt sich der Inhalt der meisten Zellen, nachdem sie bis zur Gröfse von 12—20 μ angeschwollen

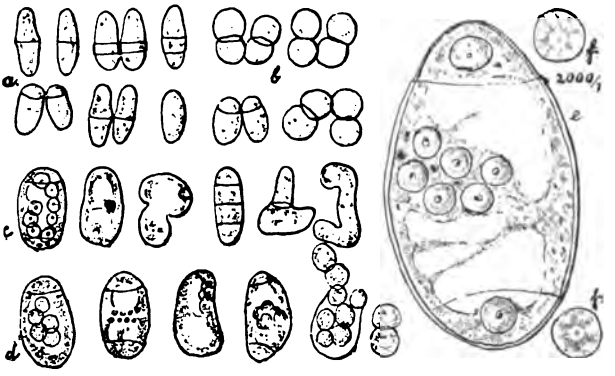


Abb. 218. Schizosaccharomyces octosporus (Beijerinck). e und f 2000fach, alles übrige 600fach. a Sehr junge Zellen aus Würzegelatine, Teilung, Kappenbildung, Scharnierbewegung und Zellenpaare. b kräftige Gärung in saurer Glukosemalzwürze, Dyaden und Tetraden, typische Zellformen für die asporogene Rasse. c aus Gärung in stark saurer Lävulosewürze, Sporenbildung, Zellen mit Zellkernen. d Ascen in verschiedenen Stadien der Sporenbildung, Kappen deutlich sichtbar, Sporen in Freiheit gelangend, Anschwellung der Sporen. e mit Pikrinsäure fixierter junger Ascus. f Askosporen. (Nach Beijerinck.)

sind, in Sporen, welche die Eigenschaft haben, mit Jod eine kräftige Blaufärbung zu geben (Lindner).

In Würzegelatine bildet sie Kolonien wie die Kulturhefen, nur wächst sie etwas langsam; gesteigert wird das Wachstum, wenn die Gelatine mit 3—5% Glukose oder Lävulose versetzt wird.

Bei fortschreitendem Wachstum treten anstatt der ursprünglichen Teilzellen, die etwa die Dimensionen der Bierhefezellen haben, jetzt fast nur sporenbildende Zellen von 12—20 μ Gröfse auf. Auch hier wie bei S. Pombe finden sich die scharfen Ringlinien, welche die Grenze der alten Mutterzellmembran und der neugebildeten Kappe (die vorgestülpte Querwand) bezeichnen. Auch bei den Ascis wird die Kappenbildung oft mit überraschender Deutlichkeit wahrgenommen; oft, obschon nicht immer, kommt dabei an beiden Polen der Zellen eine Kappe vor. Dies kann aber nur eintreten bei Zellen, die einem durch mehrere Querwände geteilten Faden angehört haben und die durch Spaltung desselben frei geworden sind (Abb. 218 e).

In gärenden Würzen bei beschränktem Luftzutritt giebt die als Unterhefe fungierende Kultur ein ziemlich gleichmäfsiges Bild (Abb. 218b). Läfst man reichlich Luft zutreten, dann beginnt die Zellengröfse wieder bedeutend zu variieren. Die in Abb. 218c abgebildeten Zellen kann man als die aërobe Gärform des Pilzes bezeichnen.

Eine bemerkenswerte Eigenschaft desselben ist noch die starke Neigung zur Bildung von kleinen Flöckchen. Sowohl die aus dem Ascus frei werdenden Sporen, als auch die durch Teilung der vegetativen Zellen hervorgegangenen Gliederzellen bleiben lange Zeit miteinander verklebt. Häufchen von 20 Einzelzellen sind nicht selten, und kann man solche schon mit der Lupe leicht erkennen; da sie sehr schwer sind, setzen sie sich leicht ab, so dafs eine vollständige Trennung der gärenden Flüssigkeit von der Hefe auch ohne Filtrieren gelingt. Ganz lose Zellen werden in den Gärungen nur relativ selten angetroffen.

Der Schizosacch. octosporus bietet auch ein günstiges Objekt zum Studium des Zellkernes dar; letzterer ist in vielen Zellen, wenn auch schwierig, so doch sicher als solcher herauszuerkennen; er liegt zumeist in dem wandständigen Plasma, rückt aber auch oft in die Plasmabrücke, die sich in der Mitte der Zelle von einer Zellwand zur anderen erstreckt. Die Teilung des Zellkerns erfolgt sehr rasch, und sind aus diesem Grunde Zellen mit 2 oder 4 Kernen verhältnismäfsig selten anzutreffen.

Die reifen Askosporen besitzen einen deutlichen Kern (f), und bei starker Vergröfserung ergiebt sich, dafs das Protoplasma rings um diesen Kern eine strahlenförmige Anordnung besitzt. Die Auskeimung der Askosporen ist sehr leicht zu beobachten, da dieselbe bei reichlicher Ernährung innerhalb der Ascen stattfindet. Dieselbe besteht einfach in einer Anschwellung bis zur normalen Zellengröfse; nachher erfolgt sogleich die Teilung. Eine Abstreifung der Sporenwand findet nicht statt. Schon wenn die erste Teilung stattfindet, ist die Ascuswand durch den inneren Druck zerrissen, und der achtzählige Zellenkomplex wird frei.

In Bezug auf die assimilierbaren Formen des Stickstoffes ist Schizosacch. octosporus sehr wählerisch. Mit Ammonsalzen und Asparagin konnte unter sonst günstigen Bedingungen ein kaum merkliches Wachstum erreicht werden. Selbst Peptone siccum, welches für die Bierhefe eine ausgezeichnete Stickstoffquelle darbietet, erlaubt nur ein sehr schwaches Wachstum. Nur die natürlichen Stickstoffverbindungen, wie sie im Malz und in Rosinen gefunden werden, sind als die eigentliche Bezugsquelle des Stickstoffes aufzufassen; sind diese Körper vorhanden, dann läfst sich leicht feststellen, welches die übrigen Ernährungsbedingungen sind. Von den Kohlenhydraten verursachen

Glukose, Lävulose und Maltose ein kräftiges Wachstum, Mannit und Glycerin nur ein schwaches; Rohrzucker, Erythrit, Milchzucker, Raffinose, Dulcit, Quercit, Arabinose und Inosit gar keins. Octosporus ist die erste bekannte Hefenart, welche Rohrzucker nicht zum Wachstum verwerten kann.

Bei dem Wachstum in Mannitlösung blieb eine Alkoholbildung aus.

Die Beziehungen zum freien Sauerstoff sind ähnlich wie beim Kahmpilz; nur untergetauchte Zellen, welche mit Sauerstoff getränkt sind, können auch im sauerstofffreien Medium Gärung verursachen. Die Bierhefe braucht viel weniger gespeicherten Sauerstoff zu Wachstum und Gärung als Kahmpilze und Octosporus. Geschmack und Geruch der lebhaft mit Octosporus gärenden Würzen fand Beijerinck nicht gerade angenehm.

Wie Beijerinck gezeigt hat, bilden sich bei der Aussaat des Octosporus auf dicke Würze-Agarplatten Kolonien von verschiedenem Aussehen. Die meisten enthalten nur Asci mit Sporen, die braunen nur sporenfreie Zellen und die hellbräunlichen Kolonien bestehen aus Mischungen von beiden. Aus den braunen Kolonien läfst sich eine konstant asporogene Rasse heranzüchten, die von der sporogenen sich durch schnellere Angärung, kräftigere Säurebildung und schwächere Gelatineverflüssigung (infolge geringerer Trypsinausscheidung) auszeichnet. Sehr gut läfst sich die verschiedenartige Tendenz zur Sporenbildung auch bei Anwendung der Tröpfchenkulturen direkt verfolgen. In dem einen Tropfen können fast sämtliche Zellen Sporen bilden, während in einem anderen alle Zellen unfruchtbar sind.

Beijerinck glaubt in dem S. octosporus die Stammform für S. Pombe und S. asporus (Hefe der Arrakgärung, von Eykman isoliert) gefunden zu haben, aus der beide als tief veränderte Kulturrassen hervorgegangen sein sollen. Da aber beide im Gegensatz zu Octosporus Rohrzucker kräftig vergären und invertieren, müfsten hier die Kulturrassen sich eine wesentliche Eigenschaft neu erworben haben.

Einiges über die Vegetation der Weingärung.

Seitdem man angefangen hat, auch die in gärendem und vergorenem Moste vorhandenen Vegetationen mit Hilfe der Hansenschen Reinkultur zu sichten, hat man die Thatsache festgestellt, dafs hier, ähnlich wie in der Brauerei und Brennerei, zahlreiche Heferassen vertreten sind. Abgesehen von älteren Beobachtungen von Pasteur, David und Rees liegen speciell über Weinhefen nur von Kayser und Marx genauere Angaben vor. Kayser studierte jedoch hauptsächlich Obstweinhefen, und Marx französische Weinhefen. Eine umfassende Arbeit haben in jüngster Zeit Wortmann und Aderhold

veröffentlicht, aus der die folgenden Angaben geschöpft sind. (Landwirtsch. Jahrbücher 1894, Seite 535—587.)

Die Vegetationen in den Rohtrubs. In deutschen Trubs machen den bei weitem gröfsten Prozentsatz runde oder elliptische Hefezellen aus, welche vielfach mit den S. cerevisiae-Arten Ähnlichkeit besitzen; nebenher kommen S. apiculatus-Zellen, und endlich wurstförmig oder kahmartig gestreckte Formen vor. Auffallend ist das fast vollständige Fehlen von S. Pastorianus-Arten, während in den französischen und italienischen Trubs, sowie in Trubs aus der Krim dieselben häufig angetroffen werden.

In Bordeaux-Weinen waren runde und gestreckte Zellen fast in gleicher Menge vorhanden. Auch durch ihren Reichtum an Bakterien stechen die südländischen Trubs sehr von unseren deutschen ab. Es gab dort Trubs, in denen 60—70% aller Organismen Bakterien waren, ohne dafs der Wein als krank angesprochen werden konnte. In deutschen Weinen waren zumeist weniger als 5% Bakterien vorhanden. Die Hefe eines Rotweines unterscheidet sich von der der Weifsweine in manchen Fällen gar nicht, in anderen dagegen ist der Durchschnitt der hefeartigen Zellen kleiner, als der von Weifsweinen derselben Gegend.

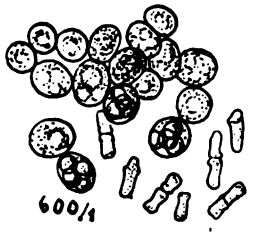


Abb. 219.
Sprofs- und Spalthefe aus Zuckerrohrmelasse; erstere mit Sporen.

Aufser den Essigsäurebakterien waren zwei Diplokokken die beständigen Begleiter der Hefe. Diplokokkus I, der kleinere von beiden, ist auch der weiter verbreitete und wahrscheinlich wichtigste. Er war in einem fadenziehenden Wein in solcher Masse vorhanden, dafs man ihn unbedenklich als Urheber der Krankheit ansprechen konnte, obwohl es Aderhold nicht gelungen ist, damit einen gesunden Wein schleimig zu machen (hier also ähnliche Erfahrungen, wie sie Verfasser mit dem Pediococcus cerevisiae bei Bierimpfungen erhalten hat). Beide Kokken treten auf faulender Hefe sehr häufig auf und scheinen bei der Zerstörung der Zellwände von Belang zu sein, da sie oft den Zellwänden in Gruppen aufsitzen.

Aderhold beobachtete diese Organismen auch im Schleimfluls dreier Rebstöcke. Unter den stäbchenförmigen Bakterien vermochte er im ganzen 5 Arten zu unterscheiden, von denen 3 der Gruppe B. aceti angehören mochten. In Rotweinen war ein in langen Ketten mit scharfen Knickungen auftretender Organismus häufig, der wahrscheinlich das Bitterwerden des Weines verursachen kann. Auf Gelatine konnte er nicht isoliert werden. Botrytis-Sporen, solche von Penicillium und Gemmen von Dematium pullulans waren die hauptsächlichsten Vertreter der Schimmelpilze. Zur Kultur der Weinhefen benützte Aderhold Mostgelatine, welche er folgendermafsen bereitete. Es wurde der Most

erst mit Kalilauge neutralisiert, dann wurde darin 10% Gelatine gelöst und mit Eiweifs erhitzt. Da in der Gelatine sich Weinsteinkrystalle ausscheiden, empfiehlt sich nach einigen Tagen eine erneute Filtration. Beim öfteren Erhitzen bräunt und schwärzt sich die Mostgelatine, zumal wenn sie neutralisiert worden. Schwachsaure Gelatinen erstarren sehr schwer nach wiederholter Verflüssigung.

Auf Tafel III findet man einige Riesenkolonien von Weinhefen aus der Geisenheimer Versuchsstation.

Einiges Interesse verdienen auch die von Wortmann und Meifsner beobachteten kleinzelligen Schleimhefen, welche Weine schleimig machen können; in stark gerbsäurehaltigen Weinen werden sie nicht angetroffen, da die Gerbsäure das Wachstum der Schleimhefe sehr hemmt.

Die Bakterien im Gärungsgewerbe.

Diesen Organismen begegnen wir in den Gärungsbetrieben allenthalben; sie bevölkern das Wasser, die Luft und die zur Verwendung kommenden Rohmaterialien, ferner die feuchten Wandungen der Gefäfse und Leitungen, die Maischen, Würzen und auch das werdende und fertige Bier, sowie die bei der Gärung gewonnene Hefe.

Nicht überall treffen wir allerdings die nämlichen Arten an. Die Mehrzahl der auf dem Getreide (resp. Malz) und im Wasser vorkommenden Arten geht bei der Herstellung der Maischen und Würzen durch die höheren Temperaturen zu Grunde. Von den noch nicht abgetöteten Keimen findet auch nur ein Teil nachher die Bedingungen zur kräftigen Entwicklung.

Gieſsen wir auf Malz- und Roggenschrot etwas Wasser, vielleicht die vierfache Menge, und lassen es bei Zimmertemperatur stehen, dann kommen alle möglichen Arten zum Vorschein.

Stellen wir eine zweite Probe bei 40° C. hin, dann haben wir mit fast absoluter Sicherheit am folgenden Tage eine intensive Buttersäuregärung zu gewärtigen; stellen wir eine dritte Probe bei 50° C. auf, dann erhalten wir zumeist eine fast reine Milchsäuregärung. Kochen wir eine vierte Probe kurze Zeit und lassen sie dann zwischen 37 oder 50° C. stehen, so bekommen wir statt einer Butter- oder Milchsäuregärung eine intensive Entwicklung des Heubacillus. Derselbe vermehrt sich an der Oberfläche besonders stark und bildet da eine schwach rötliche, kahmartig gefaltete Decke, in welcher die Zellenfäden wie Zwirnsfäden aneinandergelagert erscheinen. Die ganze Kultur hat inzwischen auch einen widerlich süfsen, muffigen Geruch angenommen. In den einzelnen Zellen beginnt dann frühzeitig die Bildung von Sporen, deren Widerstandsfähigkeit gegen höhere Temperaturen bemerkenswert ist.

Bei vorsichtigem, nur einige Sekunden währenden Aufkochen können nach Beijerinck auch die Sporen des Butylfermentes und der Buttersäurebakterie lebend bleiben, die später in der Tiefe der Maische auskeimen und unter dem Schutz der Heubacillendecke eine Butylalkoholgärung resp. eine Buttersäuregärung hervorrufen.

Diese Gärungen erhielt Beijerinck auch bei folgendem Verfahren: Das Getreidemehl oder Malzschrot wird mit kochendem Wasser zusammen gemaischt und bei Bruttemperatur stehen gelassen. Manchmal kommt hierbei eine reine Butylalkoholgärung zu stande (Butylalkohol, Wasserstoff und Kohlensäure); manchmal entsteht aber auch noch viel Buttersäure.

Das mikroskopische Bild der Maischen ist in jedem Fall ein anderes.

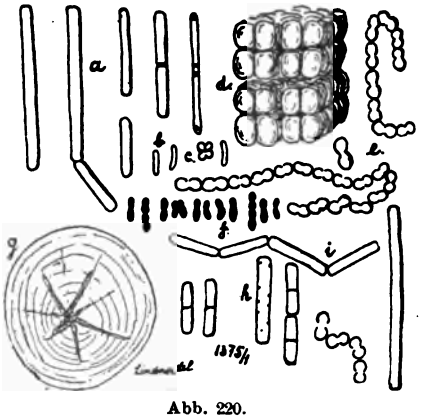


Abb. 220.
Vegetation einer kalt eingemaischten und bei 40° C. 24 Stunden lang gestandenen Malz-Roggenmaische (1/3 Malz, 2/3 Roggen, 4 Wasser).
a, i, h Buttersäureferment. b Kurzstäbchen. c Pediococcus. d Sarcina maxima. e Streptococcus. f Termobakterien. g Stärkekorn.

Am gleichmäfsigsten erscheint dasselbe in der milchsauren und in der vom Heubacillus bevölkerten Maische. In beiden Fällen sehen wir dünne, lange Stäbchenformen, doch sind die Milchsäurestäbchen bewegungslos, während der Heubacillus lebhaft schlängelnde Bewegungen ausführt. — Letzterer bildet Sporen, jene nicht.

In der buttersauren Maische, deren widerlich ranziger Geruch schon auf gröfsere Entfernung sich bemerkbar macht, ist das Bild zumeist ein gemischtes.

Da sehen wir neben den Stärkekörnchen (g) Schalenteilchen und Eiweifsgerinnsel, die bald kürzeren oder längeren, zum Teil mehrfach geknickten Stäbchen des Buttersäurefermentes (a, i und h), dann kurze, gekrümmte, kommaförmige Bakterien (b) oder kugelförmige Zellen, zu Vieren zusammengelagert (Pediococcus, c), oder rosenkranzförmige Ketten, deren einzelne Glieder semmelförmig gestaltet sind (e), oder kleine, unsymmetrisch geformte Bakterien (f), ungefähr von dem Aussehen des Bacterium termo, oder die riesenhaften Gebilde der Sarcina maxima, der schönsten aller Bakterien (d). Von den schlanken, dünnen Stäbchen des Milchsäurefermentes ist nur selten etwas zu sehen.

Die Vegetation in den Maischen wechselt natürlich oft bei Anwendung von Rohmaterialien verschiedener Herkunft. Bei Anwendung desselben Getreides resp. Malzgemisches und bei Innehaltung derselben Versuchsbedingungen erhält man jedoch immer die gleichen Erscheinungen,

vorausgesetzt, daſs die Versuche nicht zeitlich zu sehr auseinanderliegen, da mittlerweile ja die eine oder andere Bakterienart bei der anhaltenden Trockenheit zu Grunde gegangen sein kann.

Ändert man die Versuchsbedingungen etwas, z. B. arbeitet man mit Gefäſsen, die nicht steril sind, oder giebt man der frisch hergestellten Maische eine Impfung von einigen Tropfen einer schon sauer gewordenen Maische, dann kann eine ganz anders zusammengesetzte Vegetation entstehen.

So ist es dem Verfasser oft gelungen, durch Überimpfen einiger Tropfen einer buttersauren Maische, in der die kurzen, plumpen Buttersäurestäbchen die Hauptmasse der Vegetation bildeten, in eine frisch hergestellte Maische eine Gärung zu erhalten, die trotz der 40° C. und trotz der Aussaat von Buttersäurebakterien Buttersäure nur noch wenig entwickelte; bei dem abermaligen Überimpfen einiger Tropfen der zweiten Gärung in eine dritte frische Maische wurde diese bei 40° C. rein milchsauer. Die Buttersäurestäbchen waren völlig verschwunden, an ihre Stelle war ausschlieſslich eine Pediococcusart (c), der P. acidi lactici, getreten.

Wie ist diese merkwürdige Thatsache zu deuten? Offenbar sind bei der ersten Maische die trocknen Keime ungleich schnell zum Auswachsen gekommen. Die Zellen des Buttersäurebakteriums werden jedenfalls zuerst auf dem Platze gewesen sein und schon zu einer Zeit, wo die anderen noch eben keimten, reichlich sich vermehrt haben. Die allmählich eintretende Buttersäuregärung, bei der neben etwas Kohlensäure hauptsächlich Wasserstoff entsteht, wird für die massenhafte Vermehrung der anderen Arten, namentlich der mehr luftliebenden, hinderlich gewirkt haben. Bei der Impfung der zweiten Maische liegen die Verhältnisse so, daſs sämtliche ausgesäeten Keime sogleich ihre Vermehrung beginnen. Nun handelt es sich darum, welche Keime am schnellsten wachsen. Wir müssen annehmen, daſs der Pediococcus acidi lactici so schnell wächst, daſs eben nach einiger Zeit die Zahl der Buttersäurestäbchen überholt wird. Bei der dritten Maische endlich kommen schon vorwiegend Zellen des Pediococcus zur Aussaat, und die frühzeitige Milchsäurebildung wirkt nun wieder hemmend auf die Buttersäurebakterien.

Ein anderes Beispiel: Kocht man ungehopfte Würze in einem Reinzuchtapparat, der mit einer Brennereihefe geimpft werden soll, nur kurze Zeit, vielleicht nur 5 oder 10 Minuten lang, dann erhält man nach dem Abkühlen fast mit Sicherheit den Heubacillus in kräftiger Kultur. Läſst man aber die Würze, bevor sie kocht, erst 6—8 Stunden lang bei 50° C. stehen, dann erscheinen die Milchsäurebakterien schon in reichlicher Zahl und mit ihnen eine schwache Säuerung. Kocht man jetzt kurze Zeit auf, so erhält man nach dem Abkühlen eine haltbare Würze;

die Sporen des Heubacillus vermögen nicht in der schwach sauren Würze auszukeimen.

Gelangt zu solch steriler Würze keimhaltiges Wasser, so sind es hauptsächlich die Arten des Bacterium termo, die binnen kurzer Zeit die Würze trüben und verderben. Auch wenn die Würze gehopft ist, tritt eine Entwicklung ein. Die Bestandteile des Hopfens werden hierbei zum Teil angegriffen, und geben solche trübe gehopfte Würzen meist einen an Sellerie erinnernden Geruch. Mitunter tritt noch neben der Trübung eine Gasentwicklung auf, die auf eine besondere, dem Bacterium termo nahestehende Art zurückzuführen ist. Das Gas ist der Hauptsache nach Wasserstoffgas.

Die Bakterien, die sich in der Würze mit solcher Schnelligkeit vermehren, sind fast durchweg lebhaft beweglich [1]).

Die Bewegung der Bakterien in der Würze geht aber verloren, sobald derselben gärkräftige Hefe zugegeben wird. Nach der Hauptgärung treffen wir kaum noch lebensfähige Zellen an. So sehr die Hefe sich innerhalb der gärenden Flüssigkeit vor den Bakterien zu schützen weifs, so sehr ist sie durch sie gefährdet aufserhalb der Gärung. Gepreſste Hefe, die beim Waschen mit reichlichen Mengen Wasserbakterien vermischt worden ist, geht leicht in Fäulnis über. Bemerkenswert ist auf der anderen Seite, dafs diejenigen Bakterien, welche die Gärung überleben, die Haltbarkeit der Hefe nicht gefährden.

Dies gilt sowohl von der Biersarcina (Pediococcus cerevisae), sowie vom stäbchenförmigen Milchsäureferment, als auch von den Essigsäurebakterien. — Von den ersteren beiden ist bekannt, dafs sie im Hefenbodensatz ganze Nester bilden. Die Essigsäurebakterien besitzen ein zu grofses Sauerstoffbedürfnis, als dafs sie im Bodensatz der Gärbottiche neben der Hefe sich stark entwickeln sollten; sie spielen ihre Rolle erst dann, wenn das Bier matt und schal wird, und mit der Luft in gröfsere Berührung kommt. Nicht immer ist mit der Gegenwart dieser Bakterien eine Krankheit des Bieres angezeigt, ebensowenig wie die Gegenwart notorischer Krankheitshefen, wie S. Pastorianus I, III und ellipsoideus II immer dem Bier verderblich werden mufs. Es spielen hierbei eine Menge anderer Faktoren eine Rolle, wie der Vergärungsgrad, Gehalt des Bieres

---

[1]) Die von sämtlichen Bakterien eines bestimmten Volumens Würze innerhalb eines bestimmten Zeitraumes zurückgelegten Wegstrecken sind enorm grofs. Rechnen wir pro Kubikcentimeter einer trüben Würze 10 Millionen Zellen; die Wegstrecke, die eine jede Zelle in der Sekunde zurücklegt, sei 0,001 mm. In der Sekunde wird also insgesamt ein Weg von $10000000 \times {}^1/_{1000}$ mm $= 10000$ mm $= 10$ m zurückgelegt. In 24 Stunden $24 \times 3600 \times 10$ m $= 864000$ m $= 864$ km. Berechnen wir die Wegstrecken, die in 24 Stunden in einem Liter trüber Würze durchmessen werden, so kommen $1000 \times 864 = 864000$ km heraus oder 115000 Meilen, also die doppelte Entfernung der Erde vom Monde.

an Kohlensäure oder Alkohol oder an Hopfenbestandteilen, mehr oder weniger dichter Verschluſs der Gefäſse und Flaschen, die Gröſse und der Zeitpunkt der Infektion, starke Bewegung auf dem Transport und Ähnliches mehr. Auch die chemische Wirkung ist nicht immer die gleiche; in manchen Bieren, namentlich hellen, ist z. B. das Auftreten der Biersarcine mit einem eigentümlichen Geruch verknüpft, den man in dunklen Bieren weniger bemerkt. In hellen Bieren wird ein feiner Schleier, der durch die Bakterien verursacht wird, schon unliebsam empfunden, während er in dunklen Bieren ganz übersehen wird. Es ist nicht immer genau zu sagen, wann ein Bier schon als krank zu bezeichnen ist. Manche Hefen und Bakterien können schon dünne Beläge auf dem Boden gebildet haben, und das Bier kann sich noch klar ins Glas einschänken lassen. Hätte man aber vorher die Flasche stark geschüttelt, so würde man das Bier im Glase nicht mehr als fein bezeichnen können.

Manche Biere, wie das Berliner Weiſsbier, enthalten das stäbchenförmige Milchsäureferment und auch Sarcinabakterien in solcher Anzahl, wie sie im Lagerbier nicht vorkommen dürften. Was dort für normal gilt, gilt hier als Krankheitserscheinung.

In manchen belgischen Bieren wird sogar ein gewisser Gehalt an Essigsäure verlangt. Essigsäurebakterien sind hier also notwendig.

Als eine gefürchtete Krankheit, namentlich der obergärigen, schwach gehopften Biere ist noch das Schleimigwerden oder Langwerden des Bieres, als von Bakterien verursacht, zu erwähnen. In deutschen Brauereien sind durchweg nur Sarcinabakterien als Erzeuger dieser Krankheit angetroffen worden. In belgischen Bieren hat van Laer dagegen als solche mehrere Stäbchenbakterien (Bacillus viscosus I und II) festgestellt. Die Erscheinung des roten Weiſsbieres hat noch nicht ihre Erklärung gefunden.

Es wurde vorhin erwähnt, daſs die Termo-Arten nach der Gärung nur noch als Leichen im Bier vorhanden sind, und demnach eine aktive Rolle nicht mehr spielen. Es sei aber hier angedeutet, daſs bei zu starker Infektion der Würze vor dem Anstellen mit Hefe doch das Bier sowohl hinsichtlich des Geruches und Geschmackes, sowie hinsichtlich der Klarheit schädlich beeinfluſst werden kann. Der Selleriegeruch geht zwar beim längeren Aufkochen der Würze weg, nicht aber durch die bloſse Gärung, und die Bakterienleichen können auch dem Bier einen Schleier geben, der selbst durch Anwendung von Filtern schwer herauszubekommen ist. Laschè giebt an, in schwach gehopften amerikanischen Bieren das Bacterium termo auch als direkte Ursache der Biertrübung beobachtet zu haben. Reichardt teilt eine ähnliche Beobachtung mit.

Bezüglich der Unterscheidung der einzelnen Bakterienarten im mikroskopischen Bild ist zu bemerken, daſs zumeist nur die Zugehörigkeit zu einer gröſseren Formengruppe festgestellt

werden kann. Die Unterschiede von Bakterienarten einer Gruppe sind sehr gering; dies gilt sowohl für die Termo-Arten, wie für die Essigsäure-, wie für die Milchsäure- und Sarcinabakterien. Hier müssen, sollen die gerade vorliegenden Arten genauer bestimmt werden, Kulturversuche in festen und flüssigen Nährsubstraten herangezogen werden.

Einige Aufschlüsse giebt schon die Tröpfchenkultur. Haben wir z. B. bakterienhaltiges Bier zu untersuchen, so übertragen wir davon kleine Tröpfchen ohne weiteres in den hohlen Objektträger.

Termo-Arten können sich hier unter Umständen auch entwickeln, da reichlich Sauerstoff zu Gebote steht, und der Kohlensäuregehalt der Tröpfchen vermindert ist. Einzelne Termo-Arten bilden zarte Häute auf der Unterseite der Tröpfchen, die wiederum Streifensysteme von der Feinheit der Pleurosigmaschalen aufweisen (Proteus-Art). Andere bilden knäuelförmig zusammengerollte Zellreihen, noch andere aber nur wenig charakteristische Vegetationen. In Würzetröpfchen ist die Entwicklung von Termobakterien zumeist eine enorme. Bei der mangelnden Kenntnis dieser Gruppe sind hier aber genauere Angaben noch nicht möglich.

Die Essigsäurebakterien, wenigstens die hauptsächlich vorkommenden Arten, wachsen in den Biertröpfchen in ausgezeichnet charakteristischer Weise als zarte Häute, in denen die rosenkranzähnlichen Zellenreihen in wellenförmigen Windungen verlaufen. In älteren Tröpfchen findet man allerdings auch abweichende Bilder, indem unregelmäfsige Häufchen sich bilden, deren Zellen stark verschleimt und unscharf begrenzt sind.

Die stäbchenförmigen Milchsäurebakterien wachsen oft in Form zusammengeknäulter, vielfach geknickter Zwirnfäden; in anderen Tröpfchen allerdings isolieren sich die einzelnen Zellen und wachsen zu mehr oder weniger langgestreckten Stäbchen resp. Fäden heran.

Die Sarcinabakterien bilden entweder gröfsere Klumpen von unregelmäfsigen Umrissen, oder sie bilden kleine, am Grund des Tröpfchens sich ansammelnde Gruppen von isolierten Zellen resp. Dyaden oder Tetraden.

Für die Bakteriendiagnostik ist und bleibt die Kochsche Plattenkultur allzeit ein unschätzbares Hilfsmittel. Bei ihr haben die Bakterienkolonien genügend Nahrung und Raum für ein kräftiges Wachstum.

Sehr lehrreich ist aber auch die Beobachtung der Kolonienbildung in einer dünnen Gelatineschicht, die wir an Stelle der Tröpfchen im hohlen Objektträger ausbreiten können.

In dünner Würzegelatineschicht gewachsene Kolonien der Sarcinabakterien stellen zumeist nur sehr kleine und für das bloſse Auge kaum erkennbare Punkte dar. In Fleischsaftgelatine

kommen bei den farbigen Sarcinen gelbliche, rötliche oder orangefarbene Töne auf. Die Kolonien sind durchweg scharf umrandet. Bei der Biersarcina wurde häufig in Würzegelatine ein wolkiger Hof um die Kolonie beobachtet, der bei stärkerer Vergrößerung sich in lauter kugelige Körperchen von der Größe und dem Aussehen der Glutinkügelchen auflöste. Ältere Kolonien erscheinen oft großen vakuolenhaltigen Zellen ähnlich.

Die Kolonien des stäbchenförmigen Milchsäurefermentes senden oft strahlenförmige Bündel in die Gelatine aus; die Kolonien besitzen oft amöboide Formen, nur selten eine genaue Kugelgestalt.

Die oberflächlich auf Würzegelatine gewachsenen Kolonien der Essigsäurebakterien bilden häufig dicke, matt glänzende, schleimige Tröpfchen; im Innern der Masse fallen uns zahlreiche Involutionsformen auf.

Die Kolonien der Termo-Arten wachsen in Würze- oder Fleischsaftgelatine zum Teil sehr schnell und zu beträchtlichen Dimensionen heran, andere bleiben verhältnismäßig klein; die Masse der einen erscheint durchaus gleichmäßig, die der anderen zeigt eine ungleiche Verteilung, indem gleichsam Vakuolen innerhalb der Kolonie entstehen. Mitunter werden solche Vakuolen von Strängen durchzogen, die an die Plasmafäden einer Zelle erinnern. In anderen Kolonien sieht man die Bakterien in größeren Bündeln zusammengedrängt, die kreuzweis gelagert sind. Bei noch anderen Arten fällt uns die Ausscheidung von nadelförmigen oder kugeligen Körpern in der im Umkreis der Kolonie befindlichen Gelatine auf; bei noch anderen kommen auch Unterschiede in der Färbung hinzu. Einzelne Kolonien sind reich an Involutionsformen resp. außerordentlich lang ausgewachsenen, zuweilen auch dick angeschwollenen Zellen, die fast die ganze Kolonie durchqueren.

Zur Erkennung und Unterscheidung der luftscheuen Bakterien wie der Buttersäurebakterien sind die Tröpfchen- und Gelatinekulturen nicht ohne weiteres geeignet. Hier müssen besondere Kulturmethoden angewandt werden, um überhaupt ein Wachstum der betreffenden Anaëroben zu ermöglichen (vgl. Seite 227 und 228). Über die Gegenwart solcher Organismen in Würzen und Maischen wird uns aber der Geruchssinn oft schon Gewißheit geben, während uns das mikroskopische Bild noch im Zweifel läßt.

Über die Eigentümlichkeiten der bisher näher studierten Arten dieser Gruppe werden wir im speciellen Teil etwas Näheres erfahren.

Für manche Bakterien sind die künstlichen Nährböden nicht besonders zusagend. Man wird dann zur Adhäsionskultur im natürlichen Substrat greifen, um wenigstens über die morphologischen Eigentümlichkeiten sich einigermaßen orientieren zu können (vgl. Seite 265).

Verf. ist es mit Hilfe dieser Kulturmethode gelungen, schwer zu züchtende Arten, wie sie z. B. im Schleim der Kellerwände vorkommen, am Deckgläschen in wunderschöner Anordnung wachsen zu sehen. Für photographische Aufnahmen sind derartige Kulturen besonders wertvoll. Eine gute Photographie wird uns oft bessere Handhaben zum Vergleichen und zur Bestimmung liefern als langwierige und im Erfolg oft zweifelhafte Kulturversuche.

Wie es gelingt, die im Speichel oder Auswurf vorhandenen Bakterien am Deckgläschen direkt wachsen zu lassen (Anwendung zweckmäfsiger Temperaturen!), so gelingt es auch, die in den Naturgärungen (im Schleimfluſs der Bäume, auf süfsen Früchten, in Härings- oder Gurkenlake, in Milch, im Harn u. dgl.) vorkommenden Organismen übersichtlich nebeneinander in flach ausgebreiteten Kolonien zur Vermehrung zu bringen. Für das Studium gemischter Vegetationen ist diese Methode besonders geeignet, und da die Kultur im natürlichen Substrat vor sich geht, werden keine Ausfälle wie auf dem künstlichen Nährboden sich bemerkbar machen.

Hier sei nur noch kurz erwähnt, dafs, ähnlich wie die Hefen, auch die Bakterien allmählich sich an Säuremengen gewöhnen können, die ihnen sonst gefährlich sind. Effront giebt an, dafs zur Unterdrückung der Milchsäure- und Buttersäuregärung bei 30° C. 25 resp. 12 mg Flufssäure pro 100 ccm Aufgufs nötig waren. Aber nach allmählicher Gewöhnung an steigende Mengen wurde bei Zugabe von 30 mg Flufssäure pro 100 g Aufgufs noch annähernd dieselbe Säuerung bei beiden erzielt, die sie unter gewöhnlichen Verhältnissen geben, also 1,5 g Milchsäure resp. 0,86 g Buttersäure. Hierbei wurde dieselbe Beobachtung gemacht wie bei den Bierhefen: Die Vermehrungsfähigkeit nimmt ab, das Gärvermögen wird gesteigert.

Bei dem Essigsäurebakterium war bei 50 mg Flufssäure keine Hautbildung mehr zu beobachten; es ertrug aber noch 120 mg Flufssäure und trat hierbei eine fast gänzliche Verbrennung des Alkohols zu Kohlensäure und Wasser ein.

Nach der im vorigen gegebenen mehr allgemeinen Skizze wollen wir jetzt zu einer eingehenderen Besprechung der einzelnen Arten übergehen.

Wir beginnen mit einigen Vertretern aus der Gruppe derjenigen Bakterien, die in den gehopften Würzen der Brauereien auch zuerst am Platze sind und für die wir zweckmäfsig den Hansenschen Ausdruck „Würzebakterien“ gebrauchen können. Mit dem Eintritt der alkoholischen Gärung ist ihre Rolle gewöhnlich schon ausgespielt.

Die Bakterien der gehopften Würze.

Termobacterium lutescens. Mit diesem Namen möge vorläufig eine von Zeidler 1890 im Laboratorium unseres Instituts aus gehopfter Würze isolierte Bakterie belegt werden, die in derselben eine Trübung und einen sellerieartigen Geruch erzeugte. Die Gestalt und Bewegungsart erinnert durchaus an das von Cohn beschriebene Bacterium termo. „Die Zellen drehen sich um ihre Längsachse und schwimmen vorwärts, dann wieder, ohne umzukehren, ein Stück zurück, oder fahren auch in Bogenlinien durch das Wasser, in der Regel nicht sehr schnell, gleichsam zitternd oder wackelnd, doch auch mit plötzlichem Sprunge raketenartig dahinschiefsend, bald um die Querachse gedreht, wie der Griffel eines Bohrers, oft blitzschnell wie ein Kreisel, dann wieder längere Zeit ruhend, um plötzlich auf und davon zu fahren."

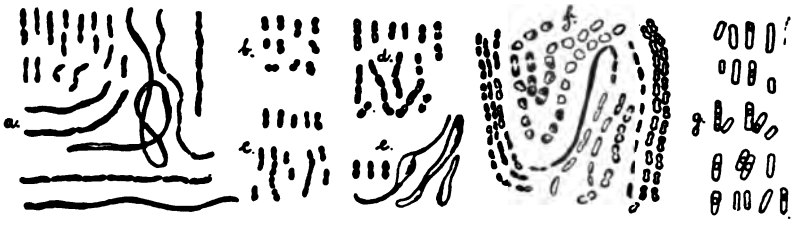


Abb. 221. Vergröfserung 600fach.
a Termobacterium lutescens. b T. iridescens. c T. album. d Bacterium aceti var. friabile (= B. II Zeidler). e Bacterium aceti var. albuminosum (= B. I Zeidler). f Essighäutchen aus einer Tröpfchenkultur (Bier). g Bacillus viscosus.

In neuerer Zeit hat man eine gröfsere Anzahl Bakterien isoliert, auf die die Cohnsche Beschreibung pafst; so gehören hierher Hausers Proteus vulgaris, Proteus Zenkeri u. a. Ob unsere Bakterie mit einer dieser Arten identisch ist, bleibt noch festzustellen; leider sind die ursprünglichen Kulturen derselben im Laufe der letzten Jahre eingegangen und wäre zu einer genaueren Vergleichung nötig, dafs der Organismus von neuem entdeckt und isoliert würde.

In voller Entwicklung in Würze zeigt die Bakterie die Form eines kleinen, in der Mitte eingeschnürten und an den Enden zugespitzten Kurzstäbchens, dessen Breite fast durchweg 0,001 mm beträgt (Abb. 221 a).

Unter gewissen Kulturbedingungen wächst es zu langen, deutlich eingeschnürten Ketten oder zu langen ungegliederten Fäden aus. Erstere findet man häufig in der gelben, schleimigen Decke älterer Kulturen in gehopfter Würze, diese in Kulturen auf Würzegelatine und Weifsbierwürze-Agar.

Auf Kartoffelscheiben und Fleischsaftgelatine bleiben solche Wuchsformen aus.

Verhalten auf festen Nährböden. In Reagenzglaskulturen auf Fleischsaftgelatine bildet das Bakterium einen schmutzig-hellgelben Impfstrich von griesig-körniger, glänzender Oberfläche mit glatten Rändern. Die Gelatine wird nach fünf bis sechs Tagen bei Zimmertemperatur verflüssigt.

Auf Kartoffelscheiben wuchs ein schmutziggelb-bräunlicher Belag.

Die Plattenkulturen zeigen scharf konturierte Kolonien. Beim Wachstum auf der Oberfläche der Gelatine erhalten sie jedoch strahlige Ränder. Die Stichkulturen in Gelatine wachsen nur auf der Oberfläche.

Verhalten in Würze. In einer mit 1½ Liter Würze gefüllten und mit Impfung versehenen und bei 19° C. hingestellten, durch Watte verschlossenen Flasche, zeigten sich folgende Erscheinungen: Die Würze war nach 24 Stunden trübe, an der Glaswandung oberhalb zeigte sich ein ringförmiger Belag, auch trat schon der charakteristische Selleriegeruch auf. Nach vierwöchentlichen Stehen hatte sich eine dicke, gelbliche Decke gebildet; unterhalb derselben war Klärung der Würze eingetreten. Den Boden bedeckte ein kräftiges Sediment von schleimiger Beschaffenheit und von schmutziggelb-brauner Farbe.

Verhalten in Bier. Reinzuchtbier, das nach Impfung mit einer kräftigen Kultur der Bakterie in Weifsbierwürze (10 ccm auf 120 ccm Bier) in sterile Flaschen gefüllt und nach 2½monatlicher Lagerung bei 6, 20 und 30° C. untersucht wurde, zeigte nur in den bei 6° C. gestandenen Flaschen das Bakterium noch lebensfähig.

Dieser Versuch bewies, dafs die im Bier vorhandene Alkohol- und Kohlensäuremenge nicht hinreichte, um die Bakterie zum Absterben zu bringen.

Verhalten in alkoholhaltiger Würze. Wurden einer gehopften Würze vor der Impfung mit dem Bakterium 3% Alkohol zugegeben, so trat noch eine ziemlich kräftige Entwicklung desselben ein. Dasselbe war der Fall, wenn durch die geimpfte Würze Kohlensäure geleitet wurde.

Verhalten in gärender Würze. Sehr wenig widerstandsfähig ist aber das Bakterium, wenn in der Würze eine energisch arbeitende Hefe vorhanden ist. Ob noch so viel Bakterienkeime vor der Gärung vorhanden waren, die Hefenthätigkeit bringt ein vollständiges Absterben sämtlicher Bakterienzellen zu stande. Es ist anzunehmen, dafs die sauerstoffentziehende Wirkung der Hefe hierbei entscheidend ist. In einem Versuch, bei dem eine durch das Bakterium schon völlig getrübte Würze mit Kräusen versetzt wurde, waren die Bakterien nach 24 Stunden schon so geschwächt, dafs nur noch in Fleischsaftgelatine, aber nicht mehr in der Würzegelatine eine Vermehrung derselben eintrat. Die nach 48 Stunden entnommenen Würzeproben enthielten nur noch Bakterienleichen. Wurde aber abgepreſste Hefe mit einer geringen Menge des lebenden Bakteriums vermischt, dann brachte es jene in wenigen Tagen zur Fäulnis.

Verhalten des Bakteriums in Weifsbierwürze, gehopfter Würze und in fertigem Reinzuchtbier. Es wurden Impfungen dieser Flüssigkeiten in Reagenzgläschen ausgeführt. Am spärlichsten war die Entwicklung in Bier; nur ein ganz schwacher Bakterienring an der Glaswandung kam zum Vorschein, die Oberfläche des Bieres blieb frei. Am Boden sammelte sich über dem braunen Sediment aus Hefe, Hopfenharz u. s. w. eine weifsliche Bakterienmasse an. Das darüber stehende Bier wurde ganz blank. In Weifsbierwürze bildete sich ein 6—7 mm, in gehopfter Würze ein 10 mm hoher Bakterienring. Eine dicke, gelbliche Decke bedeckte die Flüssigkeit. Bei geringen Erschütterungen lösten sich schleimige Flocken davon ab und fielen zu Boden. Bodensatz gelblich-weifs, voluminös. Die darüber stehende Flüssigkeit wird allmählich ganz blank. Eine Kultur des Bakteriums in 150 ccm Weifsbierwürze zeigte nach fünf Monaten einen

eigentümlichen Geschmack und Geruch nach Rauchfleischbrühe. 20 ccm bedurften 0,4 ccm Normal-Natron zur Neutralisation.

Termobacterium fuscescens. Das vorstehend behandelte Bakterium lutescens ist nicht die einzige Art, welche neben der Trübung der Würze auch den Selleriegeruch verursacht. Verfasser hatte schon vor den Zeidlerschen Untersuchungen eine bewegliche Termo-Art kennen gelernt, welcher diese Eigenschaften auch zukamen. Diese Bakterie bildete in älteren Kulturen auf Würzegelatine bräunlich gefärbte Kolonien, um die sich noch ein weiterer Hof von bräunlicher Färbung in der Gelatine bemerkbar machte.

In einer Kultur des Bakteriums in einer Malzroggenmaische, die bei 25° C. stehen gelassen war, wurden Involutionsformen beobachtet; bei 40° C. hatten andere Organismen die Impfung nicht aufkommen lassen. Eine vierwöchentliche Kultur in gehopfter Bierwürze ergab eine Säuerung von 1,5 Normal-Natron auf 20 ccm. Die Säure schien in der Hauptsache Milchsäure zu sein; eine flüchtige Säure wurde nicht gefunden. Bei einer dreitägigen Kultur waren pro 20 ccm 0,48, nach fünf Tagen 0,8 ccm N.-N. zur Neutralisation nötig. Also auch in der Säurebildung unterscheidet sich dieser Organismus von dem Zeidlerschen.

Wegen der Bildung des braunen Farbstoffes möge er als Termobakterium fuscescens vorläufig bezeichnet werden. Bezüglich der Form der Zellen mit dem T. lutescens nahe übereinstimmend.

Termobacterium album, von dem T. lutescens hauptsächlich nur durch den Mangel einer bestimmten Färbung unterschieden. Die Deckenbildung sowie die Bodensätze bleiben weifslich. Über die Form der Zellen giebt uns Abb. 221 c Aufschlufs; langgestreckte Zellen sind sehr selten; das Auswachsen zu Fäden ist nicht beobachtet worden. Die Bakterie gruppiert sich in der Würze zu gröfseren Häufchen und bildet eine dicke, weifse, flockig-schleimige Decke und an der Glaswandung im Reagenzgläschen einen 2 mm hohen Ring; in Weifsbierwürze war sowohl die Decke und Ring, sowie Bodensatz stärker entwickelt. In Bier entstand auf der Oberfläche eine dünne, flockige Schicht. Im Vergleich zu dem T. lutescens griff es die Würze etwas weniger energisch an. Sämtliche Flüssigkeiten wurden etwas entfärbt, klärten sich aber mit der Zeit. Gasentwicklung nicht beobachtet. Im Impfstrich auf Fleischsaftgelatine wächst die Kultur kräftig, mit glatter Oberfläche und feingezähntem Rand. Das Bakterium möge als Termobacterium album vorläufig bezeichnet werden.

Termobacterium iridescens. Dieses Bakterium erzeugt in gehopfter Würze ebenfalls einen Selleriegeruch; bei dem Eintritt einer Trübung macht sich aber noch das Auftreten von Gasblasen bemerklich. Es ist das Wasserstoff erzeugende Bakterium, von dem oben schon die Rede war. Es wurde im Vereinslaboratorium bei Gelegenheit der

Sterilisation von Würzegelatineröhrchen erhalten. In den Kochschen Dampftopf waren einmal zuviel dieser Röhrchen gestopft worden und der Dampf nicht lange genug wirken gelassen worden. Nach einigen Tagen zeigten sich in der Gelatine einzelner Röhrchen linsengroſse Gasblasen. Das mikroskopische Bild ergab nur Bakterienzellen, die an Bakterium termo erinnerten (Abb. 221 b). Durch wiederholte Plattenkulturen gelang es Mierau, eine zweifellose Reinkultur von diesem Organismus zu erzielen.

Die auf der Fleischsaftgelatine wachsenden Kolonien bildeten fischschuppenartige, bläulich irisierende Beläge (daher der Name T. iridescens), die innerhalb entwickelten stellten unscheinbare weiſse Kügelchen dar. Die Bakterie wächst auf Würzegelatine weniger kräftig als auf Fleischsaftgelatine. — In Weiſsbierwürze wie in gewöhnlich gehopfter Bierwürze ist das Wachstum ein sehr intensives. Nach 24 Stunden schon sieht man in einer geimpften Würze Gasblasen entweichen. Die Trübung weicht sehr langsam; erst nach zwei bis drei Wochen erscheint die Würze wieder blank, zugleich aber blasser, heller. Eine Decke wird nicht gebildet. Das Sediment ist scharf abgelagert. Nach drei Tagen hört die Gasentwicklung auf; pro Liter Würze bilden sich annähernd 80 ccm Gas.

Eine genauere Analyse verdanken wir der Liebenswürdigkeit des Herrn Professor Dr. Zuntz. Es wurden gefunden:

Wasserstoff	69,076 %
Methan	0,443 %
Stickstoff	10,709 %
Kohlensäure	19,55 %
Sauerstoff	0,32 %

Wenn groſse Würzemengen durch dieses Bakterium in geschlossenen Gefäſsen in Gärung geraten, kann leicht durch unvorsichtiges Umgehen mit Licht eine Explosion herbeigeführt werden[1]).

Die stark reduzierenden Eigenschaften des Wasserstoffes machen es wahrscheinlich, daſs bei Gegenwart z. B. von salpetersauren Salzen im Wasser oder in der Würze salpetrige Säure sich bilden wird, deren Gegenwart im Bier den sogenannten „chlorigen" Geruch bedingt.

Die Bakterie unterscheidet sich von den vorigen Arten durch das Fehlen einer Eigenbewegung, sie bildet keine Haut auf der Flüssigkeit und keine Involutionsformen; selbst in alten Kulturen konnte Mierau solche nicht auffinden.

Termobacterium erythrinum. Wir kommen nun zu einer aus dem Wasser einer Weiſsbierbrauerei isolierten, durch die Produktion eines roten Farbstoffes ausgezeichneten Art. In jungen Kulturen rosa-karmoisinrot, geht er später etwas ins Violette über.

---

[1]) Ein derartiger Fall hat sich in einer Brennerei ereignet, wo in geschlossenen Gefäſsen eine Buttersäuregärung, bei der ja auch Wasserstoff gebildet wird, zu stande gekommen war.

Die Bakterie wächst sehr schnell in Würze und überzieht die Oberfläche frühzeitig mit einer rötlichen Schicht; desgleichen siedelt sie sich gern an der Glaswandung in Form eines ringförmigen Belages an. In Fleischsaftgelatine geht sie nicht immer an, dagegen aufserordentlich gut auf Würzegelatine, die binnen kurzer Zeit ganz verflüssigt wird. Die am Grunde sich ansammelnden Massen sind blafsrot bis weifs. Die Form der Zellen stimmt mit der vorigen Art ziemlich überein. Zumeist sind die Zellen zu zweien verbunden, mitunter auch zu vieren. Die Breite ist durchschnittlich 0,9 μ, die Länge zweier Zellen 1,8 μ. Das Plasma der Zellen sammelt sich an den Polen stärker an als an der Einschnürung. In Rohrzucker-Hefewasser tritt fast gar keine Vermehrung ein, in Dextrose-Hefewasser dagegen ist dieselbe sehr kräftig. In Würze wie in Dextroselösung ist eine schwache Gasentwicklung bemerkbar. Konzentrierte Natronlauge zu der wässerigen Aufschwemmung des Bodensatzes gegeben, läfst die rote Farbe verschwinden. Konzentrierte Schwefelsäure bringt sie wieder zum Vorschein.

Die Bakterien der Getreidemaischen und ungehopften Würzen.

Bacillus subtilis, der Heubacillus. In ungehopften Würzen, die nur kurze Zeit gekocht worden sind, spielt der früher schon erwähnte Heubacillus oft eine Rolle. Seine langgestreckten, dünnen Zellen sind lebhaft beweglich und sammeln sich frühzeitig an der Oberfläche der Flüssigkeit, dort zu langen Fäden auswachsend, in denen sehr bald die Bildung stark lichtbrechender Pünktchen, der Dauersporen, eintritt. Der von Brefeld genauer untersuchte Bacillus subtilis ist in nebenstehender Abbild. dargestellt.

Abb. 222.
Bacillus subtilis. Heubacillus nach Brefeld. Links: Partie aus einer Haut, die Fäden dicht zusammenliegend; weiter recht: aufgelockerte Fäden; rechts: Sporenbildung, Sporenkeimung, Zellen mit Geifseln.

Die inficierten Maischen und Würzen erhalten kräftige, etwas rötlich angehauchte Decken und nehmen einen muffig himbeerartigen Geruch an. Die daraus gewonnenen Biere haben etwas Limonadencharakter.

Es giebt mehrere Stäbchenbakterien, die mit diesem sehr nahe Übereinstimmung zeigen. Zur Unterscheidung solcher ähnlicher Formen giebt oft die Beobachtung der Sporenkeimung wertvolle Anhaltspunkte. Wie aus Abb. 222 ersichtlich, findet das Auskeimen des Heubacillus in einer zur Längsachse der Sporen senkrechten Richtung statt. Die Sporen des ähnlich aussehenden Milzbrandbacillus, Bacillus anthracis, wachsen in der Längsachse aus.

Von der Widerstandsfähigkeit der Sporen gegen hohe Temperaturen ist schon die Rede gewesen.

Mit Hilfe besonderer Färbungsmethoden ist der Nachweis erbracht worden, dafs der Heubacillus zahlreiche Geifselfäden trägt, die von den beiden Enden und auch seitlich ausstrahlen.

Waren die bisher besprochenen Arten mehr oder weniger luftliebend, so begegnen wir in der folgenden Gruppe mehr luftscheuen Arten. Solch anaërobe Organismen wachsen hauptsächlich in tieferen Bodenschichten, in Düngerhaufen, in denen Selbsterwärmung eintritt, im Innern des Darmkanals der Tiere u. s. w. Besonders reich daran ist der Darminhalt der Pflanzenfresser. Hier findet die hauptsächlichste Vermehrung und die Ausbildung der Sporen, welche durchweg hohen Temperaturen gegenüber sehr widerstandsfähig sind, statt. Mit der Ausbreitung des Düngers auf Gärten und Felder finden auch diese Mikroben eine weite Verbreitung. Wegen ihrer anaëroben Eigenschaften entwickeln sie sich nicht immer in unseren gewöhnlichen Kulturen, ja viele unter ihnen sind überhaupt nur schwierig zu züchten. Die mikroskopische Untersuchung des Darmes weist z. B. regelmäfsig viel mehr Arten auf, als nachher bei Isolierversuchen auf den gewöhnlichen Nährböden wachsen. Auch pathogene Bakterien dürften manchmal den Darm von Pflanzenfressern bewohnen; so vermutet man dies besonders von den Bacillen des Tetanus (Starrkrampf) und des malignen Ödems, die sich ziemlich häufig in den oberflächlichen Schichten der Acker- und Gartenerde finden lassen. — Würden wir unser Getreide mit Hilfe der Plattenkultur untersuchen, so würden wir die Arten, auf die es uns hier ankommt, kaum nachweisen können. Würden wir dagegen die davon hergestellten Maischen der Bruttemperatur aussetzen, dann bekämen wir eine lebhafte Entwicklung von Buttersäurebakterien u. s. w.

Die Bakterien der Butylalkohol- und Buttersäuregärung.

Früher nahm man an, es wären Kugelbakterien, die in den Brennereimaischen diese verpönte Gärung hervorrufen; dies hat sich aber nicht bestätigt, die Kugelbakterien erwiesen sich als Milchsäurebakterien (Pediococcus acidi lactici). Die Buttersäureerzeuger sind, soweit bisher gekannt, ausschliefslich Stäbchenbakterien. Die für die Brauerei und Brennerei in Frage kommenden Organismen dieser Gruppe sind erst in letzter Zeit genauer mit Hilfe der Reinkultur studiert worden, und ist es besonders das Verdienst Beijerincks, hier Klarheit geschaffen zu haben.

Beijerinck hat bei der Einmaischung verschiedener Getreidemehl- und Gerstemalzvarietäten und nachheriger 24stündiger Aufbewahrung der Maische bei Bruttemperatur bald eine Butylalkoholgärung mit reich-

licher Wasserstoff- und Kohlensäurebildung, bald eine Buttersäuregärung mit derselben Gasbildung beobachtet. Die hierbei auftretenden Bakterien, die man bisher als Bacillus amylobacter und Clostridium butyricum bezeichnet, aber nicht genügend unterschieden hatte, sowie ferner das Buttersäureferment des milchsauren Kalkes und den als Bacillus Polymyxa bezeichneten Spaltpilz stellt er zu der neuen

Gattung Granulobacter,

für die er folgende Diagnose giebt: Obligat oder temporär anaërobe Gärungsbakterien, welche bei vollständiger Anaërobiose sich teilweise oder ganz mit Granulose anfüllen und dann Clostridiumform annehmen.

Bei Gegenwart von Sauerstoffspuren entstehen schnell bewegliche Stäbchen, welche mit Jod gelb gefärbt werden. Die Clostridien erzeugen die Sporen, welche bei einem wenig Sekunden oder Minuten langen Erwärmen auf 95—100° C. noch nicht absterben. Indem man also die Maische kurze Zeit auf solche Temperaturen bringt, kann man die Sporennachkommen in ziemlicher Reinheit erhalten. Unter den Gärungsprodukten ist Kohlensäure und gewöhnlich auch Wasserstoff vertreten, während Methan vollständig fehlt.

Gr. butylicum, besonders häufig auf nackter Gerste, erzeugt aus Maltose normalen Butylalkohol, Wasserstoff und Kohlensäure, keine Buttersäure. Die Clostridien sind dick und kurz, die Sporen grofs. Die Kolonien in Malzwürzegelatine sind milchweifs, zähschleimig und nicht gelatineverflüssigend. Während der Gärung entsteht viel Diastase, keine Glukase.

Gr. saccharo-butyricum ist im allgemeinen häufiger als das vorige und verdrängt dieses daher auch leicht in den Maischen. Es ist aufser auf Getreide noch im Boden sowie in Schlammgräben sehr verbreitet, erzeugt in den Maischen Buttersäure, Wasserstoff und Kohlensäure und stellt das anaërobe Ferment der gewöhnlichen Buttersäuerung dar. Stimmt nahe mit der vorigen Art überein, so dafs die mikroskopische Unterscheidung unsicher ist. Die Kolonien wachsen langsamer und bleiben kleiner, werden auch nicht so zähschleimig wie bei der vorigen Art. Die Clostridien geben schmale Sporen. Verflüssigt Gelatine nicht.

Beijerinck giebt folgendes Rezept zur Herstellung einer normalen Buttersäuregärung aus Zucker durch das Ferment dieser Gärung, den Granulobacter saccharo-butyricum. Man bringe in ein gewöhnliches Kochkölbchen destilliertes Wasser mit 5% Glukose und 5% fein gemahlenem Fibrin, wodurch ein dicker Brei entsteht, welcher sich leicht absetzt in der übrigens klaren Flüssigkeit. Man koche kräftig, bis alle Luft entfernt ist, infiziere während des Kochens mit Gartenerde und stelle sofort nach der Infektion siedend heifs in einen Thermostaten bei 35° C. Nach 24 oder 48 Stunden ist die Gärung in vollem Gange und wird am besten mit Natronlauge beinahe neutralisiert. Dies kann einigemal wiederholt werden, wodurch eine reichliche Anhäufung von Butyrat erhalten wird. Die Vegetation ist praktisch fast als eine Reinkultur zu bezeichnen, indem die Bakterien der Heupilzgruppe schon frühzeitig zurückgedrängt worden sind. —

Wünscht man die Clostridiumform zu erhalten, dann ersetzt man die Glukose in obiger Lösung durch Rohrzucker und fügt 3% präzipitiertes Calciumkarbonat, 0,05% Natriumphosphat, 0,05% Magnesiumsulfat und 0,05% Chlorkalium zu, verfährt

übrigens genau wie oben. Es entwickeln sich allerdings auch andere Bakterien, aber das Gr. saccharo-butyricum zeigt besonders schöne Clostridien. Die Isolierung des Bakteriums gelang so: 5%ige Gelatine wird mit 5%iger Rohrzuckerlösung nach dem Erkalten, oder bei Sporen auch schon heifs, infiziert und gleichzeitig noch mit einer sauerstoffbedürftigen Art (Heubacillen, Bacillus perlibratus etc.) vermischt, gieſst in tiefe Reagenzgläser und läſst erstarren.

In der Tiefe wachsen dann die Kolonien des Gr. saccharo-butyricum kräftig heran, vor dem Sauerstoff geschützt durch die an der Oberfläche wuchernden Mikroben.

Gr. saccharo-butyricum bildet keine Diastase. Die Gelatine wird nicht verflüssigt, selbst nicht nach Wochen.

In den oberen Schichten von Gartenerde ist es fast ausnahmslos zu finden.

Gr. lactobutyricum findet sich in den spontanen Gärungen des milchsauren Kalks. Als anaërobe Form bildet es aus diesem buttersauren Kalk, Wasserstoff und Kohlensäure, verliert jedoch leicht die Gärkraft und nimmt dann die Zellform des Heubacillus an; wandelt später den milchsauren in kohlensauren Kalk um, ohne Buttersäurebildung. Die Granulose färbt sich mit Jod nicht reinblau, sondern violettblau. Clostridien kurz, Sporen rund, wie bei Gr. butylicum. Die aërobe Form enthält in den reihenweis angelegten Sporen keine Granulose. Nach einigen Überimpfungen hört das Wachstum bei Luftzutritt auf. Auch die anaërobe Form veranlasst nur einzelne Gärungen, um dann bei fortgesetzter Überimpfung einzugehen.

Gr. Polymyxa wächst am besten bei völligem Luftzutritt, gärt aber nur bei beschränkter Lüftung -- ist also temporär anaërob. Die Luftform besteht nur aus beweglichen Stäbchen, die Gärform aus Clostridien mit wenig Granulose und meist mit Sporen. Sie erzeugt einen weichen, massigen Schleim. Bei der Gärung entsteht nur Kohlensäure und spurenweis Butylalkohol, nicht Wasserstoff und Buttersäure. Diese Form stellt den Übergang zu den Heubacillen dar.

Eine temporäre oder scheinbare fakultative Anaërobiose finden wir bei Gr. Polymyxa, den Alkoholhefen und den gärenden Schimmelpilzen, z. B. Mucor racemosus; sie beruht auf der Gegenwart einer Sauerstoffreserve in den Zellen; ist diese verbraucht, dann findet keine Gärung mehr statt, auch bei Gegenwart reduktionsfähigen Materials mit lose gebundenem Sauerstoff.

Obligat anaërobe Organismen, wie Gr. butylicum, bedürfen keiner Sauerstoffreserve, um die Gärung weiterzuführen, sofern nur reduktionsfähiges Material zu Gebote steht; die Gegenwart von Sauerstoff ist für die Gärung hinderlich oder hebt sie ganz auf. Ist kein reduktionsfähiger Körper vorhanden, dann bedürfen sie zum Wachstum und zur Ernährung Sauerstoff, wenn auch minimale Mengen. —

Von Buttersäurebildnern sind ungefähr 20 Arten beschrieben, davon sind die meisten beweglich und peritrich begeifselt. Besonders interessant ist unter ihnen das von Winogradsky gefundene Clostridium Pastorianum, das aus Zucker Buttersäure, Essigsäure, Kohlensäure und Wasserstoff macht, während es gleichzeitig aus der Luft Stickstoff bindet, und zwar um so energischer, je mehr Zucker da ist.

Milchsäurebakterien.

Es giebt sehr viele Arten Milchsäurebakterien. Bacillus prodigiosus, der Cholerabacillus sowie die meisten Vibrionen, die Bakterien aus dem Milchkot der Säuglinge, die Sarcinabakterien, der Milzbrandbazillus können Milchsäure bilden. Nachstehend sind nur die im Gärungsgewerbe vorkommenden Arten in Betracht gezogen. Die folgende Zusammenstellung verdanke ich Herrn Dr. Henneberg, welcher sich in unserem Laboratorium in letzter Zeit eingehender mit dieser Gruppe beschäftigt hat.

Bacillus Delbrücki (Leichmann), (B. acidificans longissimus Lafar). Diese Art wird in der Brennerei und Hefefabrikation zur Säuerung angewandt. Sie bildet lange dünne Zellen, die oft zu sehr langen, scheinbar ungegliederten Fäden vereinigt bleiben. Milchsäure wird von dieser Art aus Maltose, Rohrzucker, Dextrose, Lävulose, Galactose und Dextrin gebildet, aber nicht aus Milchzucker. Flüchtige Säure entsteht dabei nicht. Die gröfste Säuremenge ist 1,5 %. Charakteristisch ist die äufserst schnelle Vermehrung und Säuerung. Die günstigste Temperatur, bei der am meisten Säure beobachtet wurde, liegt bei ca. 40° C., die schnellste Säuerung findet bei ca. 50° C. statt. Abgetötet werden die Zellen bei 65° nach 5 Minuten, während trockne Hitze sie erst bei 92° tötet. Interessant ist, dafs in der Brennereimaische verschiedene Varietäten vorhanden sind, die sich durch mehr oder weniger üppiges Oberflächenwachstum auf Agar und durch die gebildete Säuremenge unterscheiden. Die gebildete Milchsäure ist Linksmilchsäure, wie von Leichmann zuerst angegeben wurde.

Von den Hayduckschen Versuchen mit dem Milchsäureferment der Brennereimaischen seien folgende wichtige Befunde mitgeteilt:

Wenn eine Malzmaische aus Grünmalz (200 g Schrot mit Wasser auf 1 Liter aufgefüllt, dann bei 60° C. eine halbe Stunde gemaischt) bei 50° C. stehen gelassen wurde, dann waren nach acht Stunden kaum bemerkbare Spuren des Milchsäureferments anzutreffen, nach zehn Stunden erst ganz vereinzelte Zellen. Nach elf Stunden war aber schon eine massenhafte Entwicklung da. Die Zunahme der Milchsäure in der Maische gestaltete sich folgendermafsen:

Nach	11	Stunden	waren	0,15	ccm
„	12	„	„	0,35	„
„	13	„	„	0,63	„
„	14	„	„	0,95	„
„	16	„	„	1,35	„
„	18	„	„	1,57	„
„	48	„	„	2,52	„

Normal-Natronlauge zur Neutralisation von 20 ccm Maische nötig.

In der 13. und 14. Stunde haben wir gewissermafsen die Hauptgärung, denn während dieser zwei Stunden bildete sich 1/4 der gesamten, in 48 Stunden gebildeten Säure. Die ursprüngliche Säuerung der Maische betrug durchschnittlich 0,2 ccm N.-N. auf 20 oder 0,09 g Milchsäure auf 100 ccm Maische.

Bei einem Zusatz von 0,1 % Milchsäure zur frischen Maische trat schon eine bedeutende Verzögerung der Milchsäuregärung ein, bei 0,15 % wurde sie ganz unterdrückt. Ähnlich verhielt es sich bei Zusätzen von 0,03 resp. 0,04 Schwefelsäure.

Also diese geringen Säuremengen verhindern das Auskeimen der an dem Malzschrot sitzenden Keime des Milchsäureferments.

Wurde eine Maische aber erst nach 18 Stunden, nachdem bereits massenhaft Keime entwickelt und schon 1,4 ccm N.-N. auf 20 ccm Maische nötig waren, neutralisiert und verschiedene Proben davon mit steigenden Mengen Milchsäure versetzt, da zeigte sich, dafs erst ein Zusatz von 0,5 % Milchsäure eine schädliche Wirkung auf die Gärung ausübte, aber noch bei 1,5 % Milchsäure war eine Säurezunahme nachzuweisen.

Hayduck hat auch noch den Einfluſs des Alkohols auf die Milchsäurebildung studiert. Ein Gehalt der Maische von 2 % Alkohol wirkte nicht nachteilig, ein solcher von 4 verzögerte, von 6 unterdrückte die Milchsäuregärung. Bei der reinen Milchsäuregärung bei 50° C. war das Verhältnis von nicht flüchtiger zu flüchtiger Säure wie 100 : 3. In demselben Gemisch von Malzschrot und Wasser, das einfach auf 37° C. gehalten wurde, ergab sich ein Verhältnis von 100 : 80; die Hauptmenge der flüchtigen Säure war hier Buttersäure.

Bacillus lactis acidi (Leichmann). Morphologisch ist diese Art nur sehr schwer oder gar nicht von der vorigen zu unterscheiden. Sie fand sich in Milch, die bei 50° C. zur Säuerung hergestellt wurde. Durch ihr Vermögen, Milchzucker, Trehalose, Inulin, Raffinose zu säuern, ist sie gut gekennzeichnet. Aufserdem kann sie Milchsäure aus den bei der vorigen Art genannten Zuckerarten bilden. Unter manchen Bedingungen, wie in ungehopfter Bierwürze säuert diese Art viel intensiver als die vorige, während in Brennereimaische sie um ein geringes weniger säuert. Das Wachstum ist ebenfalls anaërob weit günstiger. Die Optimumtemperatur liegt etwas tiefer als bei der vorigen Art (37° bezw. 42°). Wie Leichmann feststellte, bildet sie aus Milchzucker Rechtsmilchsäure.

Saccharobacillus pastorianus (van Laer).

Schlanke, oft gebrochene Stäbchen, von Pasteur als die Ursache des „umgeschlagenen Bieres“ erkannt. Gedeiht am besten in ungehopfter Würze; in Wein, Obstmost, Rübensaft, zuckerhaltiger Hefeabkochung oder Fleischbrühe, Peptonlösungen oder anderen Flüssigkeiten mit organischen Nährstoffen traten ähnliche Erscheinungen auf wie in Würze. In Milch gab der Bacillus bei kaum merkbarer Entwicklung doch eine leichte Gerinnung des Kaseïns. In mineralischen Lösungen geht er zu

Grunde oder wächst nur kümmerlich. 10 Minuten langes Erwärmen auf 50—60° C. tötet ihn. Die Krankheit des Bieres entwickelt sich in der Weise, dafs zunächst der Glanz einer Trübung weicht, der dann eine Bodensatzbildung und schliefslich ein unangenehmer Geruch und Geschmack folgt. Namentlich im Sommer tritt dies Umschlagen leicht ein. Was die chemische Wirkung des Bacillus anbelangt, so hat van Laer gezeigt, dafs bei der Kultur in ungehopften oder gehopften Würzen etwas Maltose und Dextrin verschwindet, und zwar wird dieser Anteil um so gröfser, wenn die entstandene Säure durch kohlensauren Kalk wieder neutralisiert wird. In einer ungehopften Würze mit einem Zuckergehalt von 7,8125 g auf 100 ccm verblieben bei Kreidezusatz nach 3 Monaten nur noch 1,717 g Zucker. Während Maltose, Saccharose und Dextrose von dem Pilz leicht angegriffen werden, gelingt die Zersetzung der Laktose nur schwierig.

Aufser Milchsäure findet sich unter den Gärungsprodukten etwas Essigsäure, Äthyl-Alkohol, sowie auch höhere Homologe und Ameisensäure.

In ungehopfter Würze steigt der Säuregehalt auf 0,36 bis 1,26 g pro 100 ccm, in gehopfter nicht über 0,27 g. Eine 30tägige Kultur des Saccharobacillus ergab in 100 ccm ungehopfter Würze 0,432, in gehopfter dagegen nur 0,180 g Säure (auf Milchsäure berechnet).

Diese Art wurde von Henneberg mit den folgenden Arten in Parallelkulturen verglichen[1]). Wie diese gärt sie in Maische sehr stark. In gehopftem Lagerbier und in gehopfter Würze findet gute Entwicklung statt. Milchsäure wird gebildet aus Arabinose, Lävulose, Dextrose, Galaktose, Rohrzucker, Malzzucker, Raffinose, Trehalose, Dextrin, Mannit und α-Methylglykosid.

Saccharobacillus pastorianus var. berolinensis (Henneberg) aus Berliner Weifsbier ist jedenfalls eine Varietät des vorigen. Milchzucker, also auch Milch wird nicht gesäuert. Die morphologischen Kennzeichen lassen diese Art von den aus der Brennereimaische und aus Milch stammenden oben beschriebenen unterscheiden. Die Zellen sind breiter und bleiben viel mehr im Zusammenhang, so dafs in Tröpfchenkulturen äufserst lange durcheinander gewundene Fadenmassen entstehen. Milchsäure wird gebildet aus: Dextrin, Maltose, Rohrzucker, Dextrose, Lävulose, Galaktose, Arabinose. Ein sehr wichtiges Merkmal liegt darin, dafs diese Art unter gewissen Bedingungen, wie in Maische stark gärt, Kohlensäure und bis 1,4 Vol. % Alkohol neben Milchsäure, Essigsäure und Ameisensäure erzeugt. In Maische ist die Säuerung ein wenig

[1]) Die Kultur stammte aus einer von van Laer gesandten Probe umgeschlagenen belgischen Bieres.

geringer als bei den vorigen Arten. Das Wachstumsoptimum liegt bei 24°, am meisten Säure wird gebildet bei 20—25°, am schnellsten bei 25—35°. Das Maximum liegt bei 40°. Charakteristisch ist, dafs diese Art sich nicht in gehopfter Würze und Bier entwickelt, also nicht die Ursache von trübe gewordenem Lagerbier sein kann. Wie Kownatzki fand, wird inaktive Milchsäure gebildet, was auch van Laer für seine Art angiebt. Diese Art wird zur Milchsäurebildung in Berliner Weifsbierbrauereien kultiviert.

Ein vom Verfasser d. B. aus Weifsbier isolierter Bacillus ergab bei einer 13tägigen Kultur in Weifsbierwürze (die nur schwach gehopft) pro 100 ccm 0,337 g Milchsäure; eine andere Kultur ergab nach 8 Wochen 0,54, nach 12 Wochen 0,72 g Säure, eine dritte Kultur, die 11 Monate lang in Pasteurschen Kolben gestanden hatte, nur 0,585 g Säure. Die Weifsbierwürze, anfangs feurig blank, trübte sich stets nach einigen Tagen und bildete einen Bodensatz von rein-weifser Farbe. Eine Kultur, die bei 40° C. hingestellt war, zeigte nur eine geringe Vermehrung der Stäbchen. Aus der anfänglich völlig klaren Würze hatten sich aber um die Fäden der Bakterien eine Unmenge kleiner, runder, tröpfchenähnlicher Körperchen abgesetzt, die vielleicht der von van Laer erwähnten stickstoffhaltigen Substanz entsprechen, die sich bei eintretender Säuerung aus der Würze ausscheiden und im Verein mit den Bacillen die Trübung in Gestalt seidenförmiger Wellen (ondes soyeux) bilden sollen. Bei Zugabe von Natronlauge verschwinden diese Tröpfchen und treten die Stäbchen klar hervor; Gentianaviolett färbte sowohl die Stäbchen wie jene Körper.

Das stäbchenförmige Milchsäureferment bildet unter gewissen Bedingungen auch Involutionsformen. So fand Verfasser bei einer Tröpfchenkultur, die er mit einem aus sogenannten „chlorigen" Weifsbier isolierten Bacillus angestellt hatte, Formen, die an Trommelschlägel erinnerten; oft waren aber auch noch im Zusammenhang befindliche Stäbchen an der Knickstelle kugelig angeschwollen. — Die Stäbchen waren in Reinzuchtbier ausgesäet worden. Das Wachstum war ein sehr langsames; es wuchsen aus den ursprünglich 3—4 μ langen Stäbchen Fäden von 30—40facher Länge heran.

In manchen Brauereien, z. B. in Weifsbier-Brauereien, ist die Milchsäuerung erwünscht, um dem Bier den besonderen Geschmack zu erteilen. Hier kann man schon beim Maischprozefs oder in der Würze die Thätigkeit des Milchsäureferments einsetzen lassen, ähnlich wie in Brennereien, wo die Milchsäuregärung ebenfalls der alkoholischen Gärung vorausgeht. Auch bei der Maltonweinbereitung läfst man die Würze erst bei 50° C. säuern, ehe man sie mit Weinhefe anstellt. Dieser Ferment ist aber wie gesagt, verschieden von dem während der Gärung sich entwickelnden.

Bacillus Lindneri (Henneberg). Diese von Henneberg neu beschriebene Art ist die Ursache des umgeschlagenen gehopften Lagerbieres. Nach ca. 14 Tagen zeigt helles Flaschenbier bei ca. 17° öfter diese Erscheinung. Unterschiede von der vorigen Art zeigen die Zellverbände, die, wie man an Färbpräparaten gut sehen kann, aus vielen einzelnen kurzen Zellen bestehen und oft Essigbakterienketten sehr ähnlich sind. Die Zellen fallen leicht auseinander und bedingen so eine lange andauernde Trübung in Flüssigkeiten. Diese Art bildet normale Zellen nur bei Gegenwart von Alkohol. Wachtumsoptimum liegt bei 21°, Säuerungsoptimum bei 17—18° C., Maximum bei 35° C. In Maische gärt dieser Bacillus ebenfalls stark, säuert aber weniger. In Hefewasser wächst er im Gegensatz zur vorigen Art sehr schlecht. Alkohol, Kohlensäure, Essigsäure und Ameisensäure wird wie von der vorigen gebildet. Wie bei dieser ist das Wachstum auch auf der Agaroberfläche ein gutes. Mit diesem Bacillus geimpftes, sterilisiertes oder pasteurisiertes Flaschenbier wird bei 20° C. nach einigen Tagen (7) gleichmäfsig trübe.

Bacterium lactis acidi (Leichmann). Das bei Zimmertemperatur eintretende Sauerwerden der Milch hat diese von Leichmann beschriebene Art als Ursache. Es ist ein kleines meist zu 2 Zellen vereinigtes Kurzstäbchen. Kohlensäurebildung findet nicht statt. Die Säuerung in Maische ist gering. Das Wachstum im Agar ist besser als auf der Oberfläche.

Milchzuckerlösung und Milch wird bei 38° am besten gesäuert, es entsteht dabei keine flüchtige Säure. Milchsäure entsteht ferner aus Galaktose, Dextrose, Lävulose, Maltose, Rohrzucker, Raffinose und Dextrin. Nach Leichmann entsteht dabei Rechtsmilchsäure.

Pediococcus acidi lactici (Lindner). Diese Art findet sich häufig in Maische. Soweit bisher untersucht ist, säuert diese Art besonders intensiv Galaktose, Trehalose, Arabinose, Xylose, Lävulose, Dextrose und Milchzucker — nicht Maltose, Rohrzucker und Dextrin.

Das Wachstumsoptimum und die beste Säuerung liegt bei 36°—40°; bei 49° findet sich noch geringes Wachstum.

(Siehe Tabelle S. 430.)

Die Sarcinaorganismen.

Über diese Gruppe wird uns die zusammenfassende Darstellung der Resultate einer früheren Arbeit des Verfassers „Die Sarcinaorganismen der Gärungsindustrie“ eine vorläufige Orientierung gewähren[1]). Die bei-

[1]) Im ganzen kennt man heute über 40 verschiedene Sarcina-Arten, von denen viele auch im menschlichen und tierischen Körper, sowie auf der Haut gefunden wurden. Ob sie eine pathogene Wirkung haben, wie man früher oft ausgesprochen

Tabelle, darstellend das Verhalten der nachgenannten Milchsäurebakterien gegen Zuckerarten und Alkohole. (Nach Henneberg.)

\+ bedeutet Säuerung; — keine, (+) geringe Säuerung.

	Bacillus Delbrücki	Bacillus lactis acidi	Bacterium lactis acidi	Saccharobacillus pastorianus	Sacch. pastorianus var. berolinensis	Pediococcus acidi lactici
Arabinose	—	—	—	+	+	+
Xylose	—	—	—	—	—	+
Rhamnose	—	—	—	—	—	—
Lävulose	+	+	+	+	+	+
Dextrose	+	+	+	+	+	+
Galaktose	+	+	+	+	+	+
Rohrzucker	+	+	+	+	+	—
Malzzucker	+	+	+	+	+	—
Milchzucker	—	+	+	—	—	+
Raffinose	—	(+)	(+)	+	—	—
Trehalose	—	+	—	+	—	+
Dextrin	+	+	+	+	+	—
Inulin	—	+	—	—	—	—
Stärke	—	—	—	—	—	—
Erythrit	—	—	—	—	—	—
Mannit	—	—	—	+	—	—
Dulcit	—	—	—	—	—	—
Quercit	—	—	—	—	—	—
α-Methylglykosid	—	—	—	+	—	—

folgenden Abbildungen (Abb. 223) werden daneben die morphologischen Eigentümlichkeiten der einzelnen Arten erläutern helfen.

1. Die Sarcinagruppe ist in den Gärungsgewerben durch zahlreiche Arten vertreten, die mikroskopisch meist nur schwierig oder gar nicht unterschieden werden können. Zur Unterscheidung eignen sich Kulturen auf Fleischsaftgelatine oder auf Nähr-Agar am besten.

---

hat, ist noch nicht sichergestellt. Oppler hat den Mageninhalt einer Anzahl Magenkranker untersucht und darin fast immer die schwefelgelbe und die gewöhnliche weifse Sarcina, seltener eine zeisiggrün-gelbe und eine weifse, Gelatine nicht verflüssigende Sarcina, in zwei Fällen auch die orangegelbe Sarcina gefunden. Verf. hat auf geräucherter und gepökelter Wurst (Frankfurter Würstchen) eine Sarcina-Art massenhaft neben einer Torulahefe angetroffen. Auch auf Kieler Sprotten, die etwas angeschimmelt waren, hatten sich Sarcinen zahlreich angesiedelt. Massenhaft ist ihr Vorkommen auch in der Mundhöhle und haben die Adhäsionskulturen, welche Verf. mit dem Speichel verschiedener Personen angelegt hat, geradezu klassische Sarcinabilder gegeben.

2. Einige derselben zeigen nur ein zweidimensionales Wachstum: P. cerevisiae, P. albus, P. acidi lactici.

3. Andere zeigen auch ein dreidimensionales, jedoch nur unter

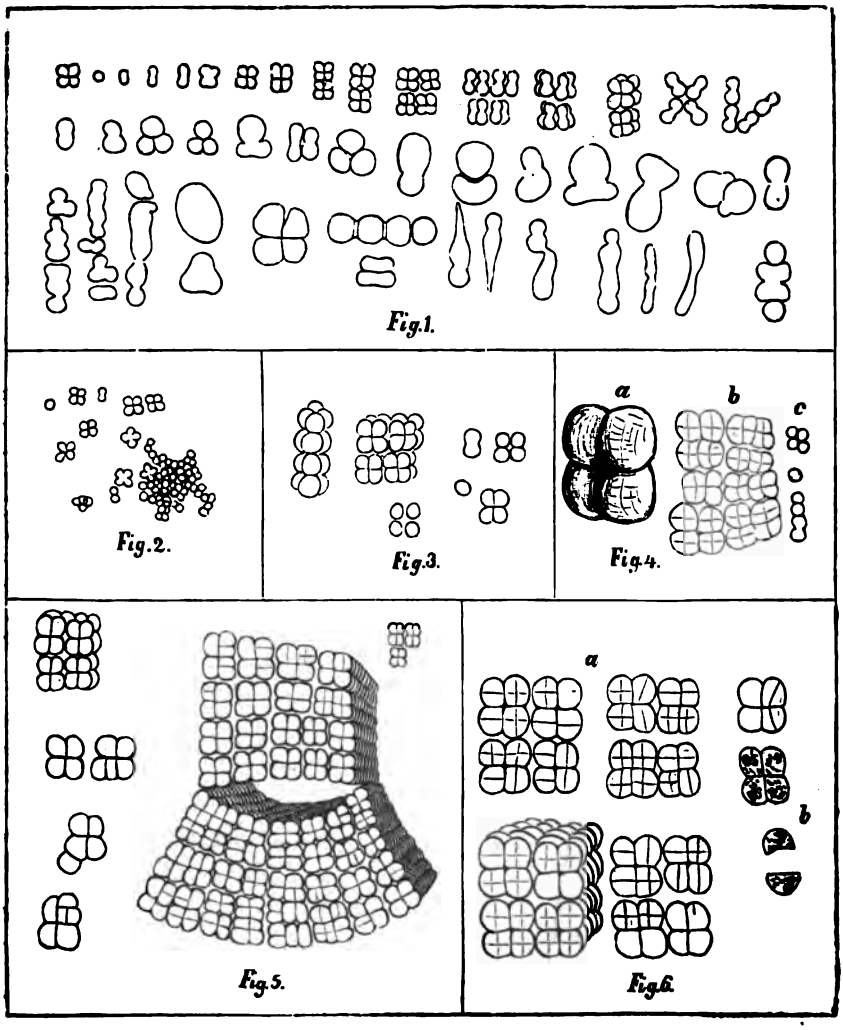


Abb. 223. Vergrößerung 1100fach.

Fig. 1 Pediococcus cerevisiae. Fig. 2 Pediococcus acidi lactici. Fig. 3 Sarcina candida. Fig. 4 Sarcina aurantiaca. Fig. 5 Sarcina flava. Fig. 6 Sarcina maxima.

ganz bestimmten Kulturbedingungen, nämlich in Heudekokt: Sarcina candida, rosea, aurantiaca.

4. Noch andere endlich wachsen fast ausschliefslich in der typischen Sarcinaform: Sarcina flava, lutea, maxima.

5. Besondere Dauerformen sind für keine der genannten Arten bekannt. Involutionsformen zeigten sich in den Kulturen von Pediococcus cerevisiae.

6. Deckenbildung ist beobachtet bei Pediococcus albus, cerevisiae und Sarcina aurantiaca.

7. In physiologischer Beziehung haben sich sämtliche Arten (Sarcina maxima noch nicht untersucht) als Säurebildner erwiesen, besonders Pediococcus acidi lactici. Die Säure hat sich in den untersuchten Fällen als Milchsäure herausgestellt (Ameisensäure war nur spurenweise nachweisbar).

8. Fast alle Arten verflüssigen früher oder später die Gelatine. Eine Ausnahme machen: Pediococcus cerevisiae und acidi lactici.

9. Die Temperatur von 60° C. wirkt schon in kurzer Zeit auf sämtliche Arten tödlich.

In vorhergehender Abbildung (Abb. 223) sind dargestellt:

In Fig. 1 Pediococcus cerevisiae. Erste Reihe: Normale Entwicklungszustände. Die Kugel dehnt sich, schnürt sich dann ein; die beiden Hälften wachsen nun in die Breite und schnüren sich abermals ein; wir haben jetzt eine Tetrade vor uns; nun wiederholt sich der eben geschilderte Vorgang; es entstehen aus einer Tetrade 8, 16 Zellen und mehr, dabei lockert sich der Verband und es treten hauptsächlich Diplokokken bezw. vereinzelte Kokken auf. Die zweite und dritte Reihe zeigt Involutionsformen, wie sie bei der Kultur auf Kartoffelscheiben erhalten werden. Das Wachstumsgesetz läfst sich aber aus den Mifsgestaltungen doch noch herauslesen.

Fig. 2 stellt Zellen und Zellenhaufen des Pediococcus acidi lactici dar; der Durchmesser der einzelnen Zellen ist durchschnittlich etwas kleiner als bei der vorigen Art (0,6—1 μ).

Fig. 3 stellt eine Sarcina candida vor, wie sie in Heudekokt zur Entwicklung gekommen ist; wir sehen hier in der mittleren Figur eine kubische Formation.

Fig. 4 ist die Sarcina aurantiaca, ebenfalls in Heudekokt gewachsen; a häufigere Form der Kolonienbildung, das Paket schliefst bereits Hunderte von Zellen ein; b seltenere Kolonienbildung; c Pediococcusformen.

Fig. 5 ist eine Sarcina flava, ebenfalls in Heudekokt gewachsen.

Fig. 6 eine Sarcina maxima aus buttersaurer Maische; a grofse Kolonie, durch leisen Druck auf das Deckgläschen in Teilpakete zerfallen, von denen eines links unten in perspektivischer Zeichnung dargestellt ist; b Zellen aus stark buttersauren Maischen; man bemerkt körnige Elemente in den halbmondförmigen, isolierten Zellen. Von letzterer Bakterie sind Reinkulturen bisher noch nicht gelungen.

Zu der obigen Darstellung sind infolge neuerer Arbeiten noch einige Nachträge zu machen. Verfasser konstatierte zunächst noch, dafs ein Pediococcus, den er Pediococcus viscosus nennen möchte, die Ursache des „Langwerdens" des Weifsbieres ist. Dieser Organismus besitzt eine aufserordentliche Ähnlichkeit in Form, Wachstum u. s. w. mit dem Pediococcus cerevisiae. Späterhin ist dann durch Reichard noch ein Pediococcus sarcinaeformis beschrieben worden. Auch dieser

zeigt in vielen Punkten mit Pediococcus cerevisiae Übereinstimmung, nur erzeugt er eine stärkere Säuerung (Milchsäure) und etwas Alkohol. Das Bier kann durch ihn trübe und schlecht schmeckend werden. In morphologischer Beziehung steht er in der Mitte zwischen den Pediokokken und den typischen Sarcinen, da er zeitweise auch in kubischen Formationen auftritt. Von diesen ist es allerdings noch zweifelhaft, ob sie durch zufällige Aneinanderlagerung der einzelnen Zellgruppen entstanden sind, oder ob bei ihnen dasselbe Wachstumsgesetz wie bei den typischen Sarcinen befolgt worden ist.

Die Unterscheidung von Sarcina und Pediococcus. Durch die Bezeichnung Sarcina wird ausgedrückt, dafs der betr. Organismus das Aussehen eines geschnürten Paketes hat (Sarcina hiefs auch das Gepäck des römischen Soldaten). Pediococcus bedeutet eine Kugel, die sich in der Fläche ausbreitet. Da eine kreuzweis zusammengeschnürte Kugel auch das Bild eines Pakets liefert, ist es gerechtfertigt, die Pediokokken der Sarcina-Gruppe einzuverleiben.

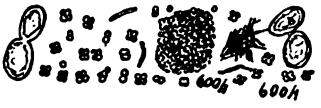


Abb. 224.
Bodensatz aus „langem Weifsbier".

Bei den Pediokokken entstehen immer nur Tetraden, bei den typischen Sarcinen Oktaden aus einer kugeligen Zelle. Die Pediococcus-Tetrade wächst nur in die Länge und Breite, die Oktade vergröfsert sich auch nach der dritten Richtung, der Tiefe. Die Tetraden wachsen zu Quadraten, die Oktaden zu Würfeln heran. Die Teilstücke runden sich später ab und werden wieder kugelige Zellen, bei denen die Teilung wiederum beginnt. Bei ungestörter Entwicklung und unter der Voraussetzung, dafs die neuen Zellgruppen mit den alten noch in Zusammenhang bleiben, würden aus einzelnen Tetraden und Oktaden allmählich grofse Kolonien sich bilden, die in dem einen Fall ein schachbrettartiges, in dem andern ein würfelförmiges Aussehen zeigen würden. In Wirklichkeit wird dieser Entwicklung aber frühzeitig eine Grenze gesetzt. Geringe Flüssigkeitsströmungen reichen schon hin, um die dünnen Tafelkolonien der Pediokokken zu lockern und auseinanderzubrechen[1]). Widerstandsfähiger sind schon die kubischen Formationen. Man findet Würfelkolonien, die über tausend Zellen enthalten. Die Kolonien der Sarcina maxima erreichen nicht selten die Gröfse von Stärkekörnern; dabei haben sie das Aussehen von Warenballen, die vielfach geschnürt sind. —

Die typischen Sarcinen wachsen aber, wie wir bereits erfahren

[1]) Am schönsten erhalten sich solche Tafelkolonien bei dem Bacterium merismopedioides von Zopf, das im Pankewasser, später aber auch auf faulenden Kartoffeln massenhaft beobachtet wurde.

haben, nicht immer zu Würfeln heran. Einzelne Arten, wie Sarcina candida, zeigen in bestimmten Nährflüssigkeiten immer nur Tetraden oder Diplokokken oder isolierte Kokken. Man wird hier von einer Pediococcusgeneration reden dürfen, jedoch nicht in dem Sinne, als ob die Einzelzelle jetzt die Fähigkeit verloren hätte, sich auch in der dritten Richtung des Raumes zu erstrecken. Wäre es möglich, eine Einzelzelle mit einer Nadel festzuhalten, ohne sie im Wachstum zu hindern, so würden wir jedenfalls eine Tetrade erhalten, deren 4 Zellen zunächst nach unten wachsen und sich teilen. Wir hätten dann 2 übereinandergeschichtete Tetraden auf der Nadelspitze. Wäre die Zelle einem Pediococcus angehörig, so würde die Abspaltung einer Tetrade nach unten nicht eintreten, weil die Pediococcuszellen sich nur horizontal ausdehnen können. Diese Unterschiede im Wachstumsgesetz treten uns aber im mikroskopischen Bild nicht vor das Auge, weil die Tetraden zu früh auseinanderfallen.

Vorkommen im Bier. Soweit bisher die Erfahrungen reichen, kommen die Sarcinabakterien im Bier immer nur in der Wuchsform des Pediococcus vor, also in Tetraden, Diplokokken und Einzelkokken. Sogar in dem einen Bier, aus dem Verfasser mit Hilfe der Fleischsaftgelatineplattenkultur ausschliefslich Kolonien der Sarcina flava mit typischen Würfelpaketen erhalten hatte, war mikroskopisch die letztere Wuchsform nicht nachweisbar. Bei dieser Sachlage ergiebt sich schon die Notwendigkeit weitläufiger Kulturen, wenn wir blofs Auskunft darüber haben wollen, ob die in den Bieren oder Hefen sich zeigenden Sarcinen Pediokokken oder echten Sarcinen angehören. Die meisten Angaben, die bisher über das Vorkommen der Biersarcinen und über ihr Verhalten im Bier gemacht sind, beziehen sich nicht auf derartig bestimmt identifizierte Arten. Erwiesen ist vorläufig nur für drei Sarcinen die Krankheit erzeugende Wirkung auf Bier: beim Pediococcus cerevisiae, P. sarcinaeformis und P. viscosus. Behauptet wird sie auch noch von Sarcina flava, aurantiaca und alba für amerikanische Biere (Lasché).

Schönfeld isolierte aus Lagerbier ebenfalls verschiedene Sarcinaarten und zwar in dem einen Fall gleichzeitig eine orangefarbene, eine Paketsarcina, eine verflüssigende und eine nicht verflüssigende Pediokokkenform. Es gelang ihm auch, eine gelbe Gelatine verflüssigende Paketsarcina in einem sterilen Gemisch von Bier und Hefewasser ebenso wie in gärender Würze zum Wachsen zu bringen.

Es können also im Bier die verschiedensten Sarcinen vegetieren.

Für die Unterscheidung der drei ersterwähnten besonders gefährlichen Arten von anderen Sarcinen ist zunächst der Umstand von Bedeutung, dafs ihre in Nährgelatine heranwachsenden Kolonien ungefärbt bleiben, ferner, dafs das Wachstum ein sehr langsames ist, und dafs die Gelatine nicht verflüssigt wird. Die drei Arten untereinander nun wieder

zu unterscheiden, ist nur durch langwierige Versuche in Nährflüssigkeiten möglich. Da sie in Fleischsaftgelatine — nach Schönfeld ist ammoniakalische Hefewassergelatine[1]) ebenfalls ein bewährter Nährboden — am schnellsten angehen, werden wir gut thun, mit diesen in erster Linie zu arbeiten.

Haben wir in Stallungen, auf Malzböden, auf Äckern u. s. w. Luftcylinder ausgesezt, dann mit Fleischsaftgelatine beschickt, so werden wir nach 3—4 Tagen, bei kühler Temperatur später, schon Sarcinakolonien antreffen. Vgl. Seite 242.

Bei einiger Erfahrung wird man schon mit ziemlicher Sicherheit sagen können, ob diese oder jene kleine Kolonie eine Sarcina ist. Die Sarcinakolonien senken sich nämlich etwas in die Gelatine ein und sieht es dann aus, als wenn sich ein kleiner Gelatinewulst um die Kolonie gebildet hätte.

Wenn wir nach den Befunden der Untersuchung nun ein Urteil abgeben sollen, ob die Vegetation für den Betrieb gefährlich ist oder nicht, so werden wir besser thun, anzunehmen, die vorgefundenen Sarcinen seien Schädlinge, als dafs wir sie einfach ignorieren. Dasselbe gilt auch dann, wenn wir Sarcinen z. B. in der Bottichwürze oder in den Hefen finden. Wir wissen, dafs in manchen Brauereien mit sarcinahaltiger Hefe immer weiter gearbeitet wird und doch die Gärungen wunderschön und das Bier gut sein können. Wir dürfen aber nicht daraus schliefsen, dafs das immer so sein wird, oder dafs andere Brauereien mit derselben Hefe dieselben Erfahrungen haben werden.

Schönfeld hat bei Versuchen mit einem aus sarcinatrübem Bier isolierten Pediococcus gefunden, dafs bei Einimpfung in verschiedene pasteurisierte Biere solche von Münchner Art am meisten trübe wurden, dann kamen Lagerbiere und dann Pilsener Bier. Auch die Temperatur, bei der er die sarcinahaltigen Biere stehen liefs, war auf die Ausbildung der Trübung von Einfluſs.

Bei 27° C. bildete sich niemals eine Trübung oder ein Schleier, jedoch ein starker Bodensatz von Sarcina; bei 1° C. war pasteurisiertes und nachher geimpftes Bier nach 4 Wochen noch ohne Satz und blank; bei 10° und 19° C. trat nach 23 resp. 10 Tagen starker Schleier und Bodensatz auf.

---

[1]) Will benutzt zum Nachweis von Sarcina neutrales Hefewasser, das er erst kurz vor dem Einimpfen der Probe mit einem Tropfen Ammonik vom spez. Gewicht 0,96 versetzt. Die Kulturen werden bei 25° C. hingestellt. Das Hefenwasser stellt er so her: Auf je 50 ccm Leitungswasser werden je 10 g frischer, trocken gepreſster Bierhefe gegeben, dann wird ½ Stunde gekocht und nach dem Abkühlen je 50 ccm Wasser weiter hinzugefügt, wodurch ein rascheres Absetzen der ausgekochten Hefe erreicht wird. Nach ca. zwölf Stunden wird dekantiert und mit Sodalösung neutralisiert. Nach längerem Stehen wird es völlig klar.

Wurde mit dem Satz des bei 27° C. blank gebliebenen Bieres anderes Bier geimpft und bei derselben Temperatur stehen gelassen, dann blieb ebenfalls eine Trübung aus; dasselbe Bier nach der Impfung aber bei 13° C. hingestellt, giebt wieder eine Trübung, jedoch erst nach 13—15 Tagen.

Die Weinsäurekur bei sarcinahaltiger Hefe. Es kommt oft genug vor, dafs kein sarcinafreies Zeug zu Gebote steht. Wie ist da Rat zu schaffen? von Huth schlägt in solchen Fällen eine Weinsäurekur für die Hefe vor; er giebt an, dafs 6 g Weinsäure pro Liter dickbreiige Hefe und 6—12stündiges Stehenlassen in der Hefewanne genügen, um die Sarcinakeime zu töten. Gegen dieses Verfahren, bei dem man übrigens die Weinsäure sicher ebensogut durch eine andere Säure, wie Schwefelsäure, ersetzen könnte, ist wenig einzuwenden, wenn die Hefe sonst möglichst frei von Verunreinigungen ist. Bei sehr geschwächter Satzhefe, die überdies gröfsere Beimengungen von wilder Hefe enthält, liegt die Befürchtung nahe, dafs letztere durch die Kur weit weniger beeinflufst wird als die normale Hefe. In der frischen Würze könnte dann leicht ein Überwuchern der ersteren Platz greifen. Bei frischem, kräftigem Zeug ist diese Befürchtung ungerechtfertigt.

Matthes hat auf Veranlassung des Verfassers festgestellt, dafs eine einstündige Einwirkung einer 1%igen Weinsäurelösung genügt, um Sarcina und Milchsäurebacillen zu töten; auch eine 0,5%ige Lösung hatte denselben Erfolg, während eine 0,25%ige die Sarcina wohl schwächte, aber die Milchsäurebacillen noch unbeschädigt liefs. Zur Tötung der Sarcina bei dieser Konzentration war eine 2stündige Einwirkung erforderlich.

Eine Gefahr bringt die Weinsäurekur, wenn man zu wenig Säure zugegeben hat oder dieselbe zu kurze Zeit wirken läfst. Dabei kann nämlich das gerade Gegenteil eintreten von dem, was man erreichen will. Die Weinsäure zerteilt zunächst die Flocken der Hefe, dann aber bewirkt sie auch ein Zerteilen der Sarcinanester. Die Tausende von Zellen, die in einem solchen Nest vorhanden waren, werden nun gleichmäfsig zwischen der Hefe verteilt. Kommt ein Absterben dieser Zellen nicht zu stande — dann tritt bei dem Anstellen frischer Würze in der Bodensatzhefe eine Miliarsarcinose ein.

Jede einzelne lebende Zelle wird der Ausgangspunkt für ein neues Sarcinanest. Durchaus nötig ist es, dafs auch sämtliche Klumpen in der Hefe zerteilt werden, denn im Innern derselben würde die Sarcina unbeschadet bleiben.

Die Weinsäurekur hat das Unangenehme, dafs die Hefe ganz suppig wird und sich langsam absetzt. Verfasser hat daher immer den Rat erteilt, die suppige Hefe nach 1—2stündiger Einwirkung der 1%igen

Weinsäure im Preſsbeutel abzupressen oder auszuschleudern. Die Hefe wird dann nicht so geschwächt sein und man wird nicht so groſse Verluste haben, als wenn man in der Wanne das Absitzen abwartet. Beim Abpressen kann man auch mit frischem Wasser die Hefe von der anhaftenden Weinsäure besser befreien. Ob man genügend Säure zugegeben, kann man vielleicht dadurch annähernd bestimmen, indem man eine vorrätig gehaltene 1 %ige Weinsäurelösung daneben kostet.

Ob man mit der Säurekur Erfolg gehabt hat, ergiebt die mikroskopische Untersuchung der Hefen aus den nächsten Gärungen. Man wird natürlich immer noch Sarcinen finden, nämlich die durch die Säure bereits abgetöteten, die Sarcinaleichen. Dieselben lassen sich leicht durch Anilinlösungen färben, während lebende Sarcinen den Farbstoff nicht aufspeichern. Man wird aber schon durch die Zahl der im Gesichtsfeld erscheinenden Sarcinen resp. aus dem Verhältnis zu den Hefezellen schlieſsen können, ob eine Vermehrung stattgefunden hat. Schnell kann man sich auch durch einen Laboratoriumsversuch davon überzeugen.

Wir bringen auf einen sterilen, flachen Objektträger von der betreffenden Hefe eine kleine Probe und verteilen sie in einem Tropfen steriler Würze oder Reinzuchtbier, nachher geben wir ein flambiertes Deckgläschen darauf und lassen das Präparat einige Zeit in einer gröſseren feuchten Kammer liegen, um eine Verdunstung des Tropfens zu verhüten. Wenn keine Kohlensäureblasen mehr gebildet werden, saugen wir die über den Rand stehende Würze mit flambiertem Fliesspapier ab und ziehen mit dem Pinsel einen Vaselinring.

Nach einigen Tagen werden wir die Sarcinen, sofern sie noch lebend waren, zu kleinen Klümpchen entwickelt sehen. Die Vermehrung hält lange an, sie wird besonders kräftig, wenn die Hefenvermehrung aufgehört hat. Wenn später ein groſser Teil der Hefezellen abstirbt, beginnt eine weitere Vermehrungsperiode. Schlieſslich lockern sich aber die Verbände, die Klümpchen zerteilen sich und das Präparat wimmelt von lauter Tetraden und Diplokokken. In solchen Präparaten ist die Sarcina fast nach einem Jahr noch lebend angetroffen worden.

Bei Verwendung von Reinzuchtbier statt Würze gelingt es auch, eine Entwicklung der Sarcina zu erzielen, selbst in der Tröpfchenkultur.

Noch in andrer Weise gelingt es, die Sarcina zum Wachsen zu bringen. Wir verrühren die Hefe mit Würzegelatine und tragen diese auf das Deckgläschen eines hohlen Objektträgers in dünner Schicht auf. Die Sarcinakolonien erscheinen hier später als die der Hefen, sie bleiben auch kleiner, ihr Inhalt erscheint gleichmäſsig feinkörnig; in späterem Alter sieht man zuweilen eine Unmenge kleiner Kügelchen von mattem Glanz die Kolonie umlagern. Die Bedeutung dieser Gebilde ist noch zu ermitteln. Noch später tritt in der Kolonie eine Art Vakuolenbildung ein. Die Masse der Sarcinazellen reicht nicht mehr aus, um den ge-

bildeten Hohlraum auszufüllen. Dies besorgt eine anscheinend schleimige Flüssigkeit.

Verhalten gegen Sauerstoff. Nach den Untersuchungen von Reichard bedarf der Pediococcus des freien Sauerstoffes zum gedeihlichen Wachstum, jedoch mufs die Spannung dieses Gases unter der atmosphärischen liegen; bei zu reichlichem Luftzutritt wird das Wachstum nicht so kräftig ausfallen und früh zum Stillstand kommen.

Vom Verfasser wurde wiederholt konstatiert, dafs bei Würzeuntersuchungen mittelst der Tropfenkultur, also bei vollem Luftzutritt, mitunter Tropfen mit massenhafter Sarcinaentwicklung auftraten. Dasselbe wurde auch von Zeidler beobachtet, jedoch machte letzterer noch die Erfahrung, dafs bei wiederholtem Aussäen dieser Sarcina in neue Würzetropfen schliefslich die Entwicklung ganz ausbleibt. Diese Beobachtung giebt auch die Erklärung für die Thatsache, weshalb Sarcinen oder Milchsäurebacillen auf Nährgelatinen so schlecht zu erhalten sind und gewöhnlich bei der zweiten oder dritten Überimpfung schon eingehen.

Schönfeld hat gezeigt, dafs bei Impfung ganz oder zu $^4/_5$ gefüllter und verkorkter Flaschen pasteurisierten Bieres diese ebenso schnell trübe wurden, wie eine zu $^4/_5$ gefüllte und mit Watte verschlossene Flasche.

Wurde jedoch noch einmal in entsprechende Flaschen übergeimpft, dann zeigte sich die Krankheit in ersteren beiden immer früher und auch ausgeprägter.

Wenn Reichard die Luft im hohlen Objektträger resp. in einer besonders konstruierten feuchten Kammer ihres Sauerstoffs durch alkalisches Pyrogallol beraubte, dann blieb die Entwicklung der Sarcinen in der Würzegelatine ganz aus. Reichard empfiehlt zur Reinzüchtung von Sarcinen aus Bier die von Beijerinck zuerst angewandte Kultur in sogenannten Mykodermakammern. Zu einer solchen Kultur können wir unsere hohlen Objektträger benützen, nur müssen wir um die ausgeschliffene Stelle einen Glasring kitten; auf diesem wird dann das Deckgläschen mittelst Vaselin befestigt. Auf dem Grunde einer solchen Kammer wird in dünner Schicht eine mit Kahmhefe geimpfte Zuckerlösung ausgegossen. Sobald die Entwicklung derselben stärker wird, entzieht sie der Luft der Kammer allmählich den Sauerstoff. Bis dies eingetreten ist, haben jedoch die Sarcinakolonien in der Würzegelatine am Deckgläschen wegen der geringeren Sauerstoffspannung sich kräftig entwickeln können, kräftiger als in anderen Präparaten ohne Mykoderma, wo Luft reichlich zur Verfügung stand. Nach dem Verschwinden des Sauerstoffs hören die Kolonien in der Mykodermakammer zu wachsen auf.

Die Kolonien in der gewöhnlichen Kammer thun desgleichen, aber aus dem entgegengesetzten Grunde, weil zu viel Sauerstoff da ist.

Wie Reichard mit Hilfe der Beijerinckschen Methode zur Erzielung von sogenannten Atmungsfiguren gezeigt hat, ist das Verhalten des Pediococcus sarcinaeformis (und jedenfalls auch der anderen Biersarcinen) gegen Sauerstoff ein verschiedenes bei wechselnden Temperaturen. Wenn man im Besitz einer Reinkultur ist, kann man diese Methode leicht ausführen. Man bringt zwischen Objektträger und Deckgläschen mit Sarcina reichlich infizierte Würze und schiebt einen kleinen Platinstift unter die eine Seite des Deckgläschens, damit die Flüssigkeitsschicht etwas dicker ausfällt. Bei 20—25° C. wandern in solchem Präparat die Pediococcuszellen nahe an den Rand des Deckgläschens und geben hier ziemlich scharfe, etwas nach innen eingebogene Linien; wird dasselbe Präparat bei 15° C. hingestellt, dann ziehen sich diese noch weiter nach innen zurück; die Bakterie ist hier also empfindlicher gegen Sauerstoff. Bei 2,5° C. sammelt sich die Hauptmenge der Bakterien unterhalb der Mitte des Deckgläschens und bildet hier eine dichte Wolke. Sorgt man dafür, dafs eine Luftblase unter das Deckglas gelangt, dann bildet sich um diese eine ringförmige Zone, die fast frei von Zellen ist. Die Temperatur dürfte dieses Verhalten kaum direkt veranlassen, man wird vielmehr annehmen können, dafs bei verschiedener Temperatur die Flüssigkeit ungleiche Mengen Sauerstoff absorbiert.

Die Sarcinen können sich also fortbewegen. Die Bewegungsart ist eine langsam wälzende. Die semmelförmigen Dyaden und die quadratischen Täfelchen der Tetraden überschlagen sich dabei fortwährend. Ob hierbei Geifselfäden in Funktion treten, ist noch nicht entschieden. Dafs solche aber vorkommen, ist durch die Beobachtung lebhaft schwärmender Pediokokken aufser Zweifel gestellt. Verfasser beobachtete solche einmal in einem Brunnenwasser aus der Stadt Posen. Neuerdings wurden auch bei Paketsarcinen solche lebhafte Schwärmbewegungen festgestellt. Es giebt einen merkwürdigen, an das Kugeltierchen Volvox globator erinnernden Anblick, gröfsere Paketkolonien im hängenden Tropfen sich lebhaft tummeln zu sehen. Die Geifselfäden sind nur mit Hilfe besonderer Färbungsmethoden sichtbar zu machen. Migula bezeichnet die bewegliche Sarcina als Planosarcina.

Beijerinck hat eine im Urin vorkommende bewegliche Paketsarcina als Planosarcina ureae beschrieben, die durch Bildung sehr widerstandsfähiger Sporen ausgezeichnet ist. Dieselben sind ca. 0,6 μ breit, während die Mutterzellen 0,7—1,2 μ messen. Diese Sarcina enthält sehr viel Urease und wirkt auf einer Ureumplatte beinahe momentan.

Eine andere, nur auf Pferdeuringelatine erhaltene Art nennt Beijerinck Urosarcina dimorpha, weil sie neben 1,5—2 μ grofsen Zellen auch unmefsbar kleine bildet. Bei einzelnen Sarcinen will er Übergangsformen zu Bacillus megatherium bemerkt haben.

Da im Dünger besonders viel Sarcinen vorkommen, ist es wahrscheinlich, dafs sie auch Harnstoff (Ureum) zu spalten vermögen. Vielleicht wird man auch den Harnstoff und dessen Spaltungsprodukt, das kohlensaure Ammon, mit Vorteil den Nährgelatinen, die zum Nachweis der Sarcina benützt werden sollen, hinzufügen.

Für die Feststellung, ob die einzelnen Sarcinen im stande sind, Ureum zu spalten oder nicht, und, wenn überhaupt, mit welcher Intensität sie das dann ungefähr thun, bedient man sich eines festen Nährbodens; am besten Hefewassergelatine (20 g Hefe auf 100 g Wasser) mit 2—3 % Ureum.

Gießt man von solcher richtig bereiteten Hefewasserureumgelatine eine Platte und bringt darauf ein Partikelchen Ammonkarbonat oder eine Kolonie einer ureumspaltenden Bakterie, so bildet sich ein Präcipitat von kohlensaurem und jedenfalls auch phosphorsaurem Kalk; dasselbe ist völlig amorph und lagert sich zunächst nur ausschliefslich in der Oberfläche der Gelatine ab, und zwar in so dünner Schicht, dafs darin Newtons Farbenringe in grofser Schönheit sichtbar werden. Da diese Schicht allmählich dicker wird und dabei auch peripherisch wächst, findet ein langsamer und regelmäfsiger Farbenwechsel der Ringe, sowie eine Ausdehnung derselben statt. Nach einiger Zeit entsteht auch in der Tiefe der Gelatine ein amorpher weifser Niederschlag, welcher infolge der Bildungsweise die Gestalt einer plankonvexen Linse annimmt; dabei geht die Farbenpracht der Oberfläche aber nicht verloren. Das Farbenfeld kann eine gröfsere Ausdehnung erreichen und leicht Gelatineflächen von mehreren Decimetern Umfang bedecken. Die Ausdehnungsschnelligkeit desselben steht in direktem Zusammenhang mit der Intensität der Ureumspaltung, also mit der Aktivität des untersuchten Bakterienmaterials. Nichtspaltende Bakterien sind auf dieser Gelatine ohne Einwirkung.

Virulenz. Es ist schon erwähnt worden, dafs derselbe Sarcinaorganismus einmal Krankheit erzeugen, das andere Mal das Bier intakt lassen kann. Die Virulenz ist also nicht immer dieselbe. Reichard hat an seinem Pediococcus gezeigt, wie Alter und Temperaturverhältnisse hierauf von Einfluſs sind. 5—6 Monate alte, in der Wärme gestandene Würzekulturen in frische Würze übergeimpft, riefen erst nach 9 bis 13 Tagen eine schwache Trübung hervor, die volle Virulenz kam jedoch erst noch später zum Durchbruch[1]). Bringt man aber eine bei 2,5° C. gestandene Kultur in frische Würze von 20—25° C., so treten in Bälde alle Erscheinungen auf, welche als Anzeichen höchster Virulenz gelten können. Die Virulenz wird stark geschwächt durch höhere Temperaturgrade. Während eine nicht erhitzte Würzekultur nach vier Tagen ohne vorhergehende Kolonienbildung am Boden sich gleichmäfsig trübte, zeigte eine 16 Minuten auf 50° C. gehaltene Würze zunächst am sechsten Tage makroskopische Kolonien am Boden und am siebenten Tage erst Anzeichen einer Trübung. Geschwächte Kulturen erreichen auch bei längerem Stehen nicht den Säuregrad, den die nicht erhitzten Würzen geben. Nach Reichard ist die Ansammlung der Sarcinen am Boden der Kulturflüssigkeit ein Anzeichen geringer Virulenz. Dieselbe kann durch mancherlei Umstände aber wieder verstärkt werden; so nimmt er

[1]) Hier mufs man jedoch auch die Frage stellen, ob die 5—6 Monate alte Kultur nicht aus sehr vielen Leichen bestand.

an, dafs eine kräftige Nachgärung auf dem Lagerfafs, bei der durch die lebhafte Bewegung und Kohlensäureentwicklung die am Boden gelegenen Sarcinanester wieder nach oben getrieben werden, die Krankheit begünstigt. Indem der am Boden des Lagerfasses anaërob vegetierende Organismus bei der stürmischen Nachgärung mit mäfsigen Sauerstoffmengen in Berührung kommt, erhält er den Anstofs zu neuer Vermehrung und gleichzeitig eine erhöhte Virulenz.

Nach Schönfeld wird die Sarcina auch schon virulent ohne Sauerstoffdarbietung, z. B. beim Durchleiten von Kohlensäure[1]) durch die Kulturflüssigkeit. Bewegung der Flüssigkeit bei gleichzeitigem Luftabschlufs sind nach ihm besonders förderlich zur Erzeugung des virulenten Zustandes.

Eine Sarcina, die in ungehopfter Würze eine starke Trübung erzeugt, braucht noch nicht für Bier virulent zu sein. Als Verfasser aber sarcinatrübe Würze zu frisch gärender oder mit Hefe eben angestellter Würze gab, trat Entwicklung ein, und das später erhaltene Bier wurde sarcinatrüb. Bei reichlicher Hefengabe blieb die Sarcinaimpfung aber ziemlich wirkungslos.

Dasselbe hat später auch Schönfeld bestätigt, und ist von ihm deshalb auch das Herführen der Hefe zur Unterdrückung der Sarcina im Gärbottich in Vorschlag gebracht worden, und vorhergegangenes kräftiges Lüften der Würze.

Das Bier ist nach Reichard immer am meisten von der Sarcina gefährdet, wenn ihre Keime aus sarcinakrankem Bier eingeimpft oder eingeschleppt werden. Es ist dies auch sehr erklärlich. Verfasser hat bei Gelegenheit der Kontroversen über die Existenz einer Sarcinakrankheit betont, dafs eine Pediococcuszelle, die aus einer Kultur auf Fleischsaftgelatine genommen und in Bier verpflanzt wird, etwas ganz anderes ist als eine im Bier geborene Zelle, dafs ein auf neutralem oder gar alkalischem Nährboden entstandener Keim für saure und alkoholische Nährmedien nicht angepafst genug ist, um hier sich wie ein eingeborener Keim zu verhalten; er hatte unter anderem auch, um die Mifserfolge bei zahlreichen Impfungen von Bier mit dem Pediococcus erklärlich zu machen, zu der Annahme seine Zuflucht genommen, dafs die Sarcinakeime die Gärung von Anfang an mit durchmachen müssen, sollen sie die Fähigkeit erhalten, sich später kräftig zu vermehren. Was ein Organismus durch allmähliche Gewöhnung an bestimmte Verhältnisse zu leisten vermag, haben neuerdings Effronts Versuche mit Hefe in flufssäurehaltigen Nährmedien bewiesen. Die Hefe konnte an erstaunliche Mengen Flufssäure gewöhnt werden, aber nur bei ganz allmählicher

[1]) Hier wäre allerdings der Luft- resp. Sauerstoffgehalt der käuflichen Kohlensäure noch zu berücksichtigen.

Steigerung des Gehalts dieser Säure in den aufeinanderfolgenden Gärungen. Auch für Bakterien hat Effront Ähnliches festgestellt. Bringt man den an Flufssäure gewöhnten Organismus in flufssäurefreie Nährlösungen, dann geht er entweder nur ganz kümmerlich weiter oder gar nicht. Schütten wir stark sarcinatrübes Bier in ein Fläschchen mit steriler Würze, dann erfolgt keine Entwicklung der Sarcina; auch in Fleischsaftgelatine tritt diese nicht ein, oder nur ganz kümmerlich, so dafs nicht einmal die Kolonien für das Auge sichtbar werden. Je gröfser die Unterschiede in den Lebensbedingungen sind, um so weniger ist der Organismus befähigt, bei plötzlichem Wechsel derselben lebenskräftig zu bleiben. Besonders lehrreich waren in dieser Beziehung die Kulturversuche mit dem Pediococcus cerevisiae, der sich auf der einen Seite als äufserst empfindlicher, auf der anderen als überaus lebenszäher Organismus erwies. Obwohl er vorkommt in Bieren von noch so hoher Vergärung, von noch so grofsem Kohlensäure- und Alkoholgehalt, ist er nicht im stande gewesen, bei dem Überimpfen von Fleischsaftgelatine in gehopfte Würze oder gar in Bier sich weiter zu vermehren.

Nur durch Vermittlung einer Zwischenkultur in neutralisierter ungehopfter Malzextraktlösung gelang es seiner Zeit dem Verfasser, den auf Fleischsaftgelatine gewachsenen, aus sarcinatrübem Bier stammenden Pediococcus schliefslich auch in gehopfter Würze zur Entwicklung zu bringen[1]).

Reichard glaubt in dem stärkeren Hopfengehalt der Würze im Vergleich zum Bier den Grund zu sehen, weshalb die Sarcina besser in Bier als in Würze angeht.

Törnell rät Brauereien, die mit Sarcina zu kämpfen haben, an, Zeuge zu beziehen von stark gehopften Bieren, da in diesen die Sarcina weniger vorhanden und auch mehr geschwächt sei. (Nach mündlicher Mitteilung.)

Reinke giebt allerdings auch für stark gehopfte Pilsener Biere das Auftreten der Sarcinakrankheit zu.

Bei Anwendung von Würzegelatine für die Luftcylinder gehen selten Sarcinakolonien an, wohl deshalb nicht, weil an den Brutstätten der Sarcina, z. B. im Dünger, die Keime an einen ammoniakalischen Nährboden gewöhnt sind. Da man bei Wasseruntersuchungen mit Hilfe der

[1]) Diese Thatsache ist von Hansen und seinen Schülern, z. B. Jörgensen, immer übersehen worden. Selbst in der neuesten Auflage seines Buches sagt Jörgensen: „Lindner erklärt, dafs es ihm in keinem Falle gelang, in Würze und Bier eine eigentliche Krankheit hervorzurufen .... Es wird angenommen, dafs Sarcinaformen unter gewissen Bedingungen in untergärigem Bier Trübungen hervorrufen können." Die Existenz einer Sarcinatrübung ist aber nicht etwa blofs eine Annahme, sondern eine feststehende Thatsache, die vor allem einem Vorsteher eines gärungsphysiologischen Laboratoriums geläufig sein müfste, da sie zu den alltäglichen Erscheinungen gehört.

Würzetropfenkultur öfters Sarcinaentwicklungen bekommt, liegt die Vermutung nahe, dafs längeres Verweilen der Sarcinakeime im Wasser sie zum Auskeimen in gehopfter Würze befähigter macht. Vielleicht spielt auch die Bodensatzhefe, welche einzelne Sarcinakeime eingeschlossen hält, eine solche erziehliche Rolle.

Schönfeld hat mit seinen Kulturen in Hefewassergelatine pasteurisierte Biere mit Erfolg geimpft, wenn die Flaschen nachher gefüllt und zugekorkt stehen gelassen wurden.

Nun noch zu der praktisch wichtigen Frage: Wie kommt die Sarcina in den Betrieb und wie macht man sie ungefährlich? Da sie nicht gefährlich werden kann, wenn sie nicht da ist, wird also die Verhütung einer Infektion die erste Aufgabe des Praktikers sein. Die Sarcina kann eingeschleppt werden zunächst durch bezogenen Zeug aus anderen Brauereien, ferner durch den Staub von Äckern, vom Hof, von Stallungen, von Getreide, Malz, Treberhaufen, endlich durch das Wasser und das aus Teichen und Sümpfen oder aus verunreinigten Flufsläufen stammende Eis. Unsaubere Bürsten und unsaubere Schuhsohlen mögen oft genug Sarcinakeime in die Gärbottiche verschleppt haben[1]).

Brauereiwässer können ihre Sarcinainfektion auch auf andere Weise als durch den Staub, der in der Luft sich befindet, erhalten, so z. B. durch Abwässer und aus dem Boden.

Schönfeld hat einen Erdboden, der seit Jahren mit Pferdemist gedüngt worden war, auf Sarcina untersucht und gefunden, dafs in der geringsten Menge Erde immer noch Sarcina vorhanden war.

Reinke hat in einem Brunnenwasser eine Sarcina sogar in kleinen zooglöa-artigen Flocken angetroffen. Der Brunnen war nur 12 Fufs tief und lag in wahrscheinlich aufgeschüttetem Boden, durch den Oberwässer leicht einsickern konnten.

Auch A. Schnell hat durch Verwendung von Quellwasser, das eine ziemliche Strecke offen durch Kulturland flofs, und bei dem, besonders zur Zeit der Schneeschmelze, Infiltrationen aus dem Boden und auch aus Stallkloaken nicht ausgeschlossen waren, eine anhaltende Sarcinaerkrankung des Bieres erhalten. Erst mit Benutzung von tadellosem Wasser besserte sich der Betrieb. Wurden Biere, die mit gutem Wasser hergestellt waren, mit 10 % von ersterem Wasser vermischt, dann stellte sich nach Wochen derselbe unangenehme Geruch und Geschmack ein, den auch die früheren Sarcinabiere gezeigt hatten. Die nicht vermischten Biere behielten den normalen, guten Geschmack. Von seinen Erfahrungen sei noch mitgeteilt, dafs die Destillate aus sarcinahaltigen Bieren stärker „fuselten" als solche aus normalem Bier. Nach kräftigem Schütteln des

[1]) Eine ungeheure Ansammlung von Sarcinanestern fand Verf. an den hölzernen Latten, mit welchen der Fufsboden der Schwankhallen belegt ist. Hier ist also eine Übertragung in den Gärkeller mittelst des Schuhwerks sehr naheliegend.

Sarcinabieres konnte er deutlich ätherische Verbindungen von rettigartigem Geruch erkennen. Durch längeres Lagern kam es auch vor, dafs das Bier seinen schlechten Geschmack verlor und nach 2—3 Monaten ein feines Aroma nach Fruchtäthern zeigte.

Ein Hauptmerkmal solcher Biere ist noch die merkwürdige Unbeständigkeit in der Intensität des Geruchs und Geschmacks. Man wird durch diese Erscheinung geradezu gefoppt; einmal tritt sie in unerträglicher Weise auf, um bald hernach, sogar bei Bier aus dem gleichen Lagerfafs, so gut wie zu verschwinden. Beim Verschneiden von fehlerhaftem Bier mit jungem Bier verschärften sich die Übelstände; später verlor sich jedoch der unangenehme Geschmack des verschnittenen Bieres, aber der Geruch nach Buttersäure-Äthern nahm zu. Durch starkes Schütteln der Biere geht er jedoch mit der Kohlensäure völlig fort, das Bier ist nachher schal, aber ohne jeglichen Beigeschmack.

Bezüglich der Frage, wie man die Sarcinagefahr verringern kann, mögen hier die Reichardschen Erfahrungen mitgeteilt werden. Bei Sättigung der kalten Würze mit Luft und Vergärung mit einer stark attenuierenden Hefe wurde nahezu ein vollständiges Verschwinden der Sarcinaorganismen und gleichzeitig eine enorme Haltbarkeit des Bieres erzielt. Bier, welches auf dem Lagerfafs nur noch eine geringe Nachgärung erfuhr, zeigte sich weniger zur Krankheit disponiert als ein Bier mit stürmischer Nachgärung, bei dem die Sarcinazellen vom Boden emporgerissen und durch Berührung mit Sauerstoff virulent gemacht wurden. Gesunde Biere, die mit sarcinahaltigem Bier verschnitten wurden, zeigten in kurzer Zeit starke Trübungen.

Bei der Gepflogenheit, in dieselbe Abteilung Lagerfässer Bottichbier von den verschiedensten Suden und den verschiedensten Hefen zu schlauchen, ist es erklärlich, weshalb manchmal eine ganze Abteilung in gleicher Weise der Sarcina zum Opfer fällt. Könnte man es so einrichten, dafs man nur Bottichbiere zusammenschlaucht von Reinhefen, die höchstens zweimal oder dreimal durchgegangen sind, dann würde man sich eine ungleich gröfsere Haltbarkeit versprechen können, als wenn Bottichbier von oftmals geführter Hefe mit schon weit fortgeschrittener Sarcinaverunreinigung dazu geschlaucht wird. Sorgfältige Reinigung der Lagerfässer und der Späne ist vor allem geboten, wenn dieselben vorher stark infiziertes Bier enthielten.

Verfasser hat darauf aufmerksam gemacht, wie durch die Verwendung von nur wenigen Litern sarcinahaltigen Bieres zum Spundvollmachen („Nachstechen") der Fässer oft ganze Abteilungen, die vielleicht noch gesund sind, mit Sarcina infiziert werden können. Es wäre hier besser, statt Bier abgekochtes Wasser oder Bottichbier zu verwenden, das nach der mikroskopischen Untersuchung als sarcinafrei sich erwiesen hat.

Letzteres wird man allerdings auch nur in den Brauereien, die Reinzuchtapparate zur Verfügung haben, immer zur Hand haben.

Es möge hier gleich erwähnt werden, dafs häufigere Einführung absolut reiner Hefe in den Betrieb mit die beste Abwehr gegen die Sarcinakalamität ist. Allerdings darf hier nicht unerwähnt bleiben, dafs Verf. wiederholt bei der Kontrolle von Reinzuchtapparaten gefunden hat, dafs dieselben — stark sarcinahaltig waren, jedenfalls infolge ungenügender Luftfiltration.

Ist die Krankheit auf dem Lagerfafs ausgebrochen (Kellertemperaturen von 5—7° C. wirken besonders gefährlich), dann giebt es kaum ein anderes Gegenmittel als möglichste Erhaltung der Kohlensäure im Bier (eventl., wenn dieselbe nicht genügend vorhanden, Aufkräusen und rechtzeitiges Spunden) und starkes Hopfen (eventl. Nachstopfen von Hopfen). Auch die Zugabe von kräftiger Bottichhefe ins Lagerfafs kurz vor dem Spunden wird als besonders einfaches Mittel hier angewendet werden (1½—2 Liter Hefe pro 50 hl Bier).

Durch Zusatz von antiseptischen Stoffen wird man wohl den Ausbruch der Krankheiten aufhalten können, jedoch auch das Bier schädigen. Doppeltschwefligsaurer Kalk sowie Salicylsäure sind früher hin und wieder angewendet worden, letztere in der Menge von 5—7 g pro hl Bier.

In schwachgehopften, untergärigen und obergärigen Bieren tritt infolge massenhafter Sarcinaentwicklung oft ein Verschleimen des Bieres ein; es wird fadenziehend. Von einem derartigen Bier hat Verfasser Tröpfchenkulturen angelegt und dabei beobachtet, dafs die infolge des Luftzutrittes reichlich eintretende Hefensprossung anscheinend den schleimigen Zustand des Tröpfchens aufhob; es war, als hätte die Hefe den Schleim aufgezehrt. Auf Anraten des Verfassers ist dann in der Brauerei, aus der das langgewordene Weifsbier stammte, zu demselben reichlich frische Hefe gegeben worden. Nachdem noch Isingglas als Klärmittel zu Hilfe genommen war, war der schleimige Zustand verschwunden und das Bier wieder verkäuflich.

Die fadenziehende Beschaffenheit des Bieres ist die Folge der Verquellung der Zellmembranen; sichtbar tritt im mikroskopischen Bild allerdings eine Schleimschicht meist nicht in Erscheinung[1]). Setzt sich die Bakterie aber mit der Zeit zu Boden, dann wird das Bier oder auch die Würze wieder dünnflüssig; beim Aufrühren aber sieht man alsdann, wie das Sediment in dünne, aufserordentlich zähe Fäden sich ausspinnt; schliefslich ist die Flüssigkeit wieder schleimig. In alten Kulturen oder Bieren

[1]) Verf. besitzt jedoch ausgezeichnete Photographien von Adhäsionskulturen mit sarcinahaltigem Lagerbier, in welchen die Pediokokken ganz deutlich begrenzte Schleimhüllen aufwiesen.

ist der Schleim aufgezehrt oder aufgelöst infolge der Säurezunahme. Bei Weifsbieren, die wieder dünnflüssig geworden sind, kommt vielfach ein angenehmes Weinbouquet zum Vorschein; auch der Geschmack hat sich nach dieser Richtung geändert. —

Die Eigenschaft, Würze und Biere schleimig zu machen, ist bisher von den Sarcinen nur für den Pediococcus viscosus (aus langem Weifsbier isoliert) festgestellt worden. Interessant ist nun die vom Verfasser gemachte Erfahrung, dafs nach langer Kultur auf Gelatine derselbe Organismus diese Eigenschaft nicht mehr zeigt. In diesem Zustand ist also eine Unterscheidung von den anderen Pediokokken noch mehr erschwert. —

Nach den mehr allgemeinen Erörterungen möge nun eine kurze Charakteristik der einzelnen im Gärungsgewerbe beobachteten Arten folgen[1]).

Wir haben schon unterschieden zwischen ungefärbten und Farbstoff bildenden Sarcinen; unter den ersteren haben wir aufser dem Pediococcus cerevisiae, Pediococcus sarcinaeformis, Pediococcus acidi lactici und Pediococcus viscosus noch den Pediococcus albus und die Sarcina candida zu erwähnen. Letztere beiden verflüssigen sehr schnell die Gelatine und sind daher leicht von den vier ersten durch eine Kultur auf Fleischsaftgelatine zu unterscheiden. Unter sich unterscheiden sie sich durch die Hautbildung. Der Pediococcus albus bildet eine solche nach wenigen Tagen, während die Sarcina candida weder in der verflüssigten Gelatine, noch in dem Kondenswasser des Agar-Agarröhrchens oder in Nährflüssigkeit eine Haut bildet.

Pediococcus cerevisiae (Balcke) ist ein sehr schwacher Säurebildner.

Pediococcus sarcinaeformis und Pediococcus viscosus verhalten sich bezüglich der Säurebildung ziemlich gleich. Pediococcus viscosus macht die Würze fadenziehend, resp. setzt sich als zähschleimige Masse auf dem Boden ab.

Pediococcus acidi lactici ist ein starker Säurebildner bei höherer Temperatur (Optimum bei 41° C.), ein schwacher bei gewöhnlicher.

Verfasser hat mehrfach Pediokokken aus sarcinatrüben Bieren isoliert, die, bis auf die etwas stärkere Säuerung, mit dem Pediococcus cerevisiae genau übereinstimmten. Ob der letztere infolge der Kultur auf Fleischsaftgelatine seiner Zeit nicht so säuerungskräftig war, oder ob jene andere

---

[1]) Die Sammlung von Kràl, Prag, führt folgende Sarcinakulturen: S. alba, albida, alutacea, aurantiaca, aurescens, citrina, crythromyxa, flava, flavescens, fusca, fuscescens, gasoformans, incana, incarnata, intamedia liquefaciens, livida, lutea, luteola, marginata, meliflava, mobilis, olens, persicina, pulchra, pulmonum, rosea, striata, sulfurea, superba, velutina, ventriculi, vermifornis Welkeri.

Arten darstellten, ist nicht genauer untersucht worden. Bezüglich der gefärbten Sarcinen sei bemerkt, dafs in derselben Farbe ebenfalls verschiedene Varietäten vorkommen; so giebt es eine Sarcina flava und eine Sarcina lutea, die bis auf die Gelatineverflüssigung übereinstimmen; lutea verflüssigt nur in sehr alten Kulturen die Gelatine, während die flava, die Verfasser auch aus Bier isoliert hat, schon innerhalb 4 Tagen Fleischsaftgelatine verflüssigte. Auch von roten Sarcinen scheint es mehrere zu geben. Nach einer brieflichen Mitteilung hat Zeidler in Moskau eine solche gefunden, welche Würze fadenziehend machte. Von der Sarcina rosea ist dies nicht bekannt. Die orangefarbene Sarcina, Sarcina aurantiaca, ist nicht zu verwechseln. Auch eine isabellfarbene Sarcina hat Verfasser gefunden; dieselbe verflüssigt frühzeitig nach 5—6 Tagen die Gelatine. Es giebt auch farbige Pediokokken, so grünlichgelbe oder chromgelbe oder schmutziggelbe.

Sämtliche Farbstoff bildende Sarcinen sind luftliebend, aërob; die farblosen sind etwas anaërob, luftscheu; man bekommt von ihnen gröfsere Kolonien nur in den tieferen Schichten des Gelatineröhrchens.

Bezüglich der Säuerung ist bisher folgendes bekannt:

Pediococcus cerevisiae gab in neutralisierter Malzextraktlösung (14 % B.) nach 15 Tagen auf 20 ccm eine Säuremenge entsprechend . . .	0,15	N.-N.
Pediococcus cerevisiae (Sorau) in Weifsbierwürze (14 % B.) nach 14 Tagen	1,00	„ „
Pediococcus cerevisiae (Stockholm) in Weifsbierwürze (14 % B.) nach 14 Tagen	0,9	„ „
Pediococcus cerevisiae (Berka) in Weifsbierwürze (14 % B.) nach 14 Tagen	0,8	„ „
Pediococcus viscosus in Weifsbierwürze (14 % B.) nach 14 Tagen . . .	1,5	„ „
Pediococcus acidi lactici: in Weifsbierwürze (14 % B.) nach 14 Tagen	0,3	„ „
Pediococcus acidi lactici: nach 11 Monaten	0,7	„ „
Pediococcus acidi lactici: Malzroggenmaische bei 41° C. schon nach einigen Tagen	2,0	„ „
Pediococcus sarcinaeformis in ungehopfter Würze bei 20—25° C. nach 1 Monat	1,26	„ „
Sarcina candida in neutraler Malzextraktlösung (7 % B.)	minimal	
Sarcina flava in neutraler Malzextraktlösung (7 % B.) nach 12 Tagen .	0,11	N.-N.
Sarcina rosea in neutraler Malzextraktlösung (7 % B.) nach 12 Tagen .	0,10	„ „
Sarcina rosea in neutraler Malzextraktlösung (14 % B.) nach 10 Tagen .	0,27	„ „
Sarcina aurantiaca in neutraler Malzextraktlösung (7 % B.) nach 14 Tagen	0,38	„ „

Im Anschlufs hieran sei noch einer Bakterie Erwähnung gethan, die ebenfalls paketartige Bildungen zeigt, jedoch mit dem Unterschied, dafs die Zellwände stark aufgequollen sind (Abb. 224). In Reinkultur ist diese Bakterie noch nicht gewonnen worden. Man findet sie häufig in Lagerkellern und in Eiskellern, wo sie die Mauerwände mit einer schleimigen Masse überzieht. Sie erinnert auch sehr an die in Abb. 13, S. 51 gezeichnete Alge, die Gloeocapsa.

Essigsäurebakterien.

Den einfachsten Nachweis für die Gegenwart von Essigsäurebakterien im Bier erbringen uns die Geruchsnerven. Wenn Bier in einer flachen Schale stehen gelassen wird, am besten bei Temperaturen zwischen 20—30 ° C., dann bilden die Bakterien eine dünne Haut auf der Oberfläche, und bald darauf macht sich der Geruch nach Essigsäure bemerkbar. Noch schärfer tritt uns dieser entgegen, wenn wir das Bier oder die Hefe in Würzegelatine verteilen und im Luftcylinder damit eine Rollkultur herstellen. Haben wir gar noch steriles Kreidepulver zugemischt, dann wird uns das Auftreten durchsichtiger Diffusionsfelder, die

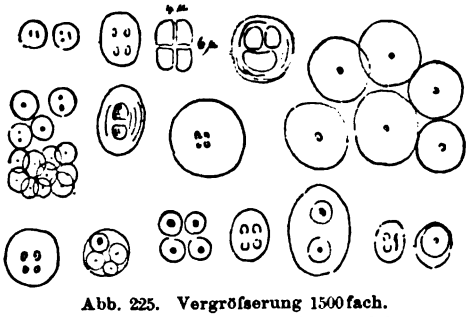


Abb. 225. Vergrößerung 1500fach. Sarcinaähnliche Bakterie mit weiten Schleimhüllen von schleimigen Kellerwandungen.

Abb. 226. Häufigere Kellerschleimorganismen. Vergrößerung 600fach.

von Tag zu Tag außerordentlich schnell sich vergrößern, die Stellen, wo die Säurebildner sich befinden und ihre Zahl anzeigen.

Sehr charakteristisch für die Mehrzahl der Essigbakterien sind die Kettenreihen, die sie in jungen Häuten auf Würze oder Bier bilden. Besonders gut kann man die Entwicklung solcher in den Tröpfchenkulturen oder Adhäsionskulturen beobachten. Man wird bei ersteren auch die Thatsache feststellen können, daß innerhalb des Tröpfchens wachsende Gruppen der Bakterien ein ganz abweichendes Aussehen von den Hautbildnern haben können.

In älteren Kulturen treten Involutionsformen häufiger auf, jedoch bei den verschiedenen Arten in verschiedener Häufigkeit und in zum Teil abweichenden Formen (siehe f der Abb. 221). Es giebt eine größere Zahl von Essigsäurebakterien. Hansen hat bisher drei Species benannt:

Bacterium aceti, B. Pasteurianum und B. Kützingianum. Die Hautbildungen der letzteren beiden geben mit Jod-Jodkalium eine blaue Färbung, die der ersteren dagegen eine Gelbfärbung. Der die Zellen umhüllende und die Glieder der Kette zusammenhaltende Schleim ist es, der auf Jod reagiert. Kulturen auf Fleischsaftgelatine oder Hefewasser gaben keine Blaufärbung.

Involutionsformen sind häufig und treten besonders auf bei höherer Temperatur zwischen 30—40° C.

Die Kettenglieder wachsen bei 40° C. sehr leicht und schnell zu langen Fäden aus (bis 500 μ Länge), die, in die Temperatur von ca. 34° C. zurückgebracht, stellenweise aufserordentliche Anschwellungen bekommen und an den dünneren Stellen wieder in Kettenglieder sich aufteilen. Lafar glaubt mehr die gebildete Säuremenge als die Temperatur als Ursache der Involutionsformen ansehen zu müssen.

Interessant ist die Feststellung von Lafar, dafs die Zellen des Essighäutchens nicht blofs den Alkohol in Essigsäure verwandeln, sondern

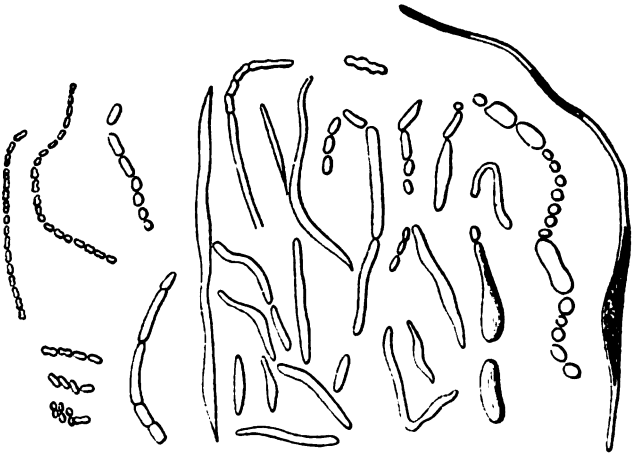


Abb. 227. Bacterium aceti und Bacterium Pasteurianum nach Hansen.

dafs sie die letztere zum Teil sogleich weiter zu Kohlensäure und Wasser verbrennen können.

Es kann daher die gebildete Essigsäure zum Teil wieder verloren gehen. Das Maximum der Säuerung bleibt jedoch erhalten, wenn inzwischen schon sämtliche Zellen des Häutchens abgestorben sind.

Nach Hansen liegt das Temperatur-Minimum für die beiden ersten Arten zwischen 4—6° C., das Optimum bei 34° C. und das Maximum bei 42—43° C.

Bringt man, wie bei Anlage der Riesenkolonien, je einen Tropfen der die einzelnen Arten enthaltenden Kulturen auf Würzegelatine, so findet man nach 18 Tagen bei 25° C. Kolonien, die bei B. aceti flach ausgebreitet, rundzackig, rosettenförmig, bei B. Pasteurianum schwach gewölbt, ganzrandig und faltig, bei B. Kützingianum schwach gewölbt und faltenfrei sind.

Eine Faltung zeigt auch die auf Doppelbier bei 34° C. gewachsene Haut des B. Pasteurianum; sie ist gleichzeitig trocken, wie die von B. Kützingianum, im Gegensatz zu der schleimigen Haut von B. aceti.

Bacterium aceti var. albuminosum (Bacterium I Zeidler) und Bacterium aceti var. friabile (Bacterium II Zeidler) sind zwei im Jahre 1890 festgestellte Essigsäurebakterien, von denen das eine vom Verfasser aus Breslauer Kretschmerbier, das andere von Zeidler aus einem trüben Berliner Bier isoliert wurde. Die Bakterien sind seiner Zeit als Bacterium I und II bezeichnet worden. Zeidler hat mit beiden eine gröfsere Anzahl Kulturversuche ausgeführt. Das Bacterium I mag vielleicht mit Hansens Bacterium aceti identisch sein, II ist aber sicher von den Hansenschen Arten verschieden[1]). Beide geben mit Jod nur eine Gelbfärbung. In e der Abb. 221 sind einige Zellen von Bacterium I abgebildet, darunter solche, die als Involutionsformen bezeichnet werden (die 3 Zellen rechts); d stellt Zellen des Bacteriums II vor. Involutionsformen sind hier nicht mit gezeichnet; die Neigung zu solchen Bildungen scheint bei dieser Art nicht so stark zu sein, als bei I.

Auf Fleischsaftgelatine geben beide Arten einen weifsen Impfstrich von matt glänzender Oberfläche; die Gelatine wird nicht verflüssigt. In Stichkulturen findet nur an der Oberfläche eine kräftige Entwicklung statt.

Auf Würzegelatine bildet I einen milchig-glasigen, durchscheinenden Impfstrich, II einen matt glänzenden, rundlichen Strich von derberer Konsistenz.

Auf gehopfter Würze bildet I ein Häutchen von konsistent schleimiger Beschaffenheit, das beim Schütteln nicht so leicht zerreifst; II ein weifsliches, etwas bröckliges, bei Erschütterungen leicht zu Boden fallendes Häutchen. Die mikroskopischen Bilder beider Häute stimmen mit den Hansenschen Zeichnungen überein.

In Bier zeigen sich dieselben Unterschiede. Der Bodensatz von I ist voluminös, schleimig und deutlich geschichtet, der von II aus den herabgefallenen Hautstücken bestehend.

Auf Kartoffelscheiben wachsen beide als glänzend weifse Beläge ohne charakteristische Umrisse. Die Kultur von I zeigt später einen Stich ins Rötlichbraune.

Bei einem Versuch mit je 1 Liter Würze von 12,3° Ball., die nach der Impfung bei 15° R. unter Watteverschlufs hingestellt wurde, war schon nach 24 Stunden Trübung eingetreten und die Hautbildung bereits im Anzuge. Nach 1½ Monaten hatte Bakt. I ein deutlich geschichtetes, Bakt. II ein aus herabgefallenen Hautfetzen bestehendes Sediment gebildet.

Die Saccharometeranzeige war unverändert, von den 8,657% Maltose waren 0,9 resp. 1,4% verschwunden; die entstandene Säure wurde durch 7,4 resp. 3,6 ccm N.-N. pro 100 ccm neutralisiert.

---

[1]) Leider sind im Laufe der Jahre die Kulturen dieser beiden Arten eingegangen, bevor ihre Morphologie eingehender untersucht werden konnte.

In zugekorkten Flaschen gehaltenes, mit je 10 Tropfen Impfung (Weifsbierwürzekultur) versehenes Reinhefebier wurde bei 5, 16 und 24° R. hingestellt.

Das bei 5° R. gelagerte Bier mit Bakt. I war nach 2½ Monaten ganz trübe und wies einen dicken, schichtenweis abgelagerten Bodensatz auf. Der Geschmack des Bieres war unangenehm sauer; pro 100 ccm bis 4,9 ccm N.-N. Der schleimige Bodensatz von Bakt. I verhielt sich beim Ausgiefsen aus der Flasche gerade so wie Hühnereiweifs, indem stellenweise gröfsere gelatinöse Klumpen herausflossen. Die bei 16 und 24° R. gelagerten Biere waren gleichmäfsig schleimig, hatten einen etwas weinigen, fast gar nicht säuerlichen Geschmack (100 ccm bis 1,5 ccm N.-N.); während aber das bei 24° R. gelagerte Bier fast gar keinen Bodensatz hatte und trübe war, war das bei 16° R. gelagerte oberhalb des Bodensatzes klar. — Bei der Übertragung von den drei Bierproben auf Würze zeigten sich nur die Bakterien aus dem bei 5° und 16° R. gestandenen Bier noch lebend. Die Hefe war nur in letzterem lebensfähig geblieben.

Die gleichen Versuche mit Bakt. II ergaben schleirige Biere mit etwas wenigem Geschmack und einer Säuerung von 1,5 ccm N.-N. Die Bodensätze waren gering, Schleimbildung fehlte. — Lebendig waren die Bakterien nur in dem bei 5° R. gelagerten Bier geblieben, in den beiden anderen war nur Hefe lebend.

Wurde nicht bereits fertiges Bier, sondern Würze geimpft, während des Anstellens mit Hefe, dann zeigte sich in den auf Flaschen abgefüllten und zugekorkten Bieren mit Bakt. I nach 1½ Monaten noch ein Verschleimen des Bieres bei einer Säuerung von nur 1,5 ccm N.-N. pro 100 ccm, das bei 5° R. zugekorkt gestandene Bier war jedoch ganz normal geblieben. Die bei 5° R. mit Wattepfropf versehene Flasche mit Bakt. I hatte aber einen ganz dicken, schleimigen Bodensatz gebildet und eine Säuerung von 22,4 ccm N.-N. auf 100 ccm gegeben. Von den beiden bei 16 und 24° R. gestandenen zugekorkten Flaschen war das erstere stärker verschleimt, als das letztere, bei gleicher Säuerung.

Mit dem Bakt. II geimpfte Würze gab nur bei 5° R. trübes Bier. Das Bier, das bei 16 und 24° R. 1½ Monat gestanden hatte, schmeckte wie gewöhnliches abgestandenes Bier und hatte nur eine Säuerung von 1,5 ccm N.-N., also dieselbe, wie die entsprechenden Flaschen von Bakt. I.

Während das mit Watteprop verschlossene Bier bei 5° R. 25,5 ccm N.-N. auf 100 ccm brauchte, genügten für das zugekorkte 3 ccm N.-N. Der Geschmack des letzteren war auch schon ziemlich sauer.

Durch diese Versuche ist bewiesen, dafs die beiden Essigsäurebakterien nicht während der alkoholischen Gärung zu Grunde gehen.

Wurde die Aussaat erst während der Hauptgärung gegeben, dann waren die Verhältnisse ähnlich. Wurde die nach der Hauptgärung gewonnene Hefe gepreſst, so wurde keine besondere Vermehrung der Bakterien in der Hefe konstatiert. Also die Essigsäurebakterien bringen Hefe nicht zur Fäulnis.

Wurde Würze geimpft und erst beim Eintritt einer Trübung mit Hefe angestellt, dann war zwar die Kohlensäureentwicklung anfangs etwas schwächer als im Kontrollversuch, kam aber am Schlufs auf dieselbe Gröfse. Die sonstigen Gärungserscheinungen waren aber anders: es bildete sich nämlich ein dicker Ring an der Glaswandung, und das Bier hatte am Schlufs der 14tägigen Gärung eine gelblich-bräunliche Färbung. Säuregehalt, Geruch und Geschmack waren aber fast

ebenso wie beim Kontrollbier. Das Bier von Bakt. I war am Ende der Gärung schon ziemlich schleimig, das von Bakt. II aber nicht. Die Hefe hatte sich verhältnismäfsig gut abgesetzt. Die zugekorkten dreiwöchigen Biere mit Bakt. I waren durchweg schleimig, ob sie bei 5, 16 oder 24° R. gestanden hatten. Säuerung 1,8 ccm N.-N. Die Schleimbildung war bei 5° R. am stärksten; das Bier war so zähflüssig wie Hühnereiweifs; bei 24° R. fehlten die grofsen Schleimklumpen. Die Biere von Bakt. II waren nur trübe. Die mit Wattepfropfen versehenen Flaschen zeigten grofse Differenzen in der Säuerung. Am meisten hatte das bei 16° R. gestandene Bier Säure gebildet, bei Bakt. I 62,4 ccm N.-N., bei Bakt. II 66,4 ccm N.-N. pro 100 ccm. Die entsprechende Säuerung bei 5° R. war 48,8 und 51,6, bei 24° R. 4,8 und 50,0. Auffallend ist die geringe Säuerung von 4,8.

Um den Betrieb vor Infektion durch Essigsäurebakterien zu schützen, resp. das fertige Bier, wird man neben den früher angegebenen Vorsichtsmafsregeln noch besonders darauf zu achten haben, dafs Bierreste nicht in Brunnen gelangen, dafs die Abwässer der Schwankhalle und des Flaschenspülraumes, desgleichen die Sickerwässer der Treber nicht auf dem Brauereihof verbleiben und dort vielleicht zwischen den Pflastersteinen Pfützen bilden. Am zahlreichsten sind wohl die Essigsäurebakterien in den leeren Flaschen und Gebinden anzutreffen. Besonders empfindlich wird in den obergärigen Betrieben die Infektion sich geltend machen, da hier die höhere Temperatur die Säuerung begünstigt.

Da sich die Essigbakterien schon auf dem Bottich entwickeln können, mufs die Bottichreinigung stets sehr sorgfältig ausgeführt werden, will man nicht, namentlich bei obergärigen Bieren, einen späteren Essigstich der Biere in Kauf nehmen. Wie man aus der Anstellhefe die Bakterien am zweckmäfsigsten entfernt, darüber sind noch keine eingehenderen Versuche gemacht.

Von Herrn Prof. Dr. Reinke bekam Verfasser vor Jahren ein sonderbares Gebilde ausgehändigt, das ungefähr die Gröfse und das Aussehen eines angeschwollenen Fingers hatte. Es war in einer Weifsbierflasche an dem locker aufgesetzten Korken angewachsen gefunden worden. Die Masse war so zähfaserig, dafs nur schwer unter dem Deckgläschen ein Präparat zu gewinnen war. Das Ganze bestand lediglich aus kürzeren und längeren Zellen mit dicken Schleimwänden. In Würze ausgesäet, wuchs eine feste, zähschleimige Decke heran, die auch beim Umkehren des Gefäfses die darunter befindliche Flüssigkeit nicht ausfliefsen liefs. Dieser interessante Organismus scheint mit dem von Brown untersuchten Bacterium xylinum identisch zu sein.

Von Herrn Dr. Klein-Lissabon erhielt Verfasser ähnliche Gebilde zugesandt, die er in den Essigkaraffen einiger Wirtschaften gefunden hatte.

In neuester Zeit sind noch eine Anzahl neuer Arten aufgefunden worden, über die das Wichtigste in der nachfolgenden Skizze, die Herr

Dr. Henneberg so freundlich war, dem Verfasser zur Verfügung zu stellen.

Brown hat das Bacterium xylinum und ein B. aceti beschrieben, welches nicht mit dem Hansenschen B. aceti identisch ist. Von Zeidler ist ein Essigbakterium unter dem Namen Termobacterium aceti beschrieben, von Henneberg neuerdings 5 Essigbakterien B. acetosum, acetigenum und oxydans ascendens und industrium. Sicher ist die Zahl der vorkommenden Essigbakterien noch nicht abgeschlossen.

Die bekannten Arten unterscheiden sich ziemlich gut voneinander. Mit Jodlösung färbt sich die äufsere schleimige Membran von B. Kützingianum und Pasteurianum schön blau, die der übrigen genannten Arten nicht. B. xylinum giebt in jungen Kulturen mit Chlorzinkjod eine violette Färbung, ebenso mit Jod und konzentrierter Schwefelsäure eine blaue Färbung (Celluloseraktion).

Die Hautbildung ist sehr verschieden; B. xylinum ist ohne weiteres an seiner dicken, lederartigen, festen Hautbildung zu erkennen, B. acetigenum bildet eine zarte, aber fest zusammenhängende Haut. Die Häute von B. acetosum, aceti, Pasteurianum sind bei einigem Vergleichen leicht zu unterscheiden; sie bilden eine derbe Haut, die leicht in einzelnen Lappen beim Anrühren untergeht.

B. oxydans und Termobacterium aceti bilden nur sehr zarte, unscheinbare Häute.

Bleibt bei B. acetosum, aceti, Pasteurianum und xylinum die Flüssigkeit unter der Haut stets klar, so ist diese bei Kützingianum, T. aceti, oxydans und acetigenum stark getrübt.

Abb. 228.
Bacterium xylinum aus dem Hals einer Weifsbierflasche.
Die Masse ist knorpelig fest, bei durchfallendem Licht gelblich opalisierend.

Schwärmerbildungen finden sich in jungen Kulturen stets bei Termob. aceti, B. oxydans und acetigenum. Letzteres schwärmt auch in mehreren Wochen alten Kulturen noch — übertrifft darin noch das Zeidlersche Termob. aceti.

Die mikroskopische Untersuchung giebt gute Unterscheidungsmerkmale.

Regelmäfsig in schönen langen Ketten finden sich in nicht zu alten Kulturen die Zellen von Pasteurianum und acetosum. B. aceti zeigt weniger deutliche Kettenbildung, B. Kützingianum und acetigenum ausschliefslich nur unregelmäfsige Gruppen.

B. oxydans und Termob. aceti zeigen nur in ganz jungen Kulturen längere Ketten, das letztere besonders nur selten deutliche Zellverbände, sondern meistens nur Zellpaare.

Ein sehr gutes Erkennungsmerkmal für die einzelnen Arten geben die sog. Hypertrophien. Läfst man z. B. die Kulturen bei höherer Temperatur, bei ca. 35° C. stehen, so erhält man regelmäfsig die merkwürdigen Formen. B. acetigenum und Kützingianum zeigt nur wenig vergröfserte Zellen unter diesen Bedingungen, Pasteurianum bildet wie acetosum öfters kolossal vergröfserte spindelige Zellen. B. aceti zeigt am häufigsten sehr verlängerte, scheinbar ungegliederte Zellfäden. B. oxydans bildet sehr charakteristische Zellen mit kleinen, kopfförmig angeschwollenen Seitenästen, wodurch es sich von dem Termob. aceti leicht unterscheidet.

Physiologische Unterschiede finden sich ebenfalls. Die beste Temperatur zum Wachstum liegt für B. xylinum, acetigenum, aceti, Pasteurianum und Kützingianum bei ca. 30° C., für acetosum, aceti und oxydans bei Zimmertemperatur.

Dextrose, Äthyl und Propylalkohol können alle Arten gut oxydieren, Maltose dagegen wird nur durch B. oxydans und durch B. industrium in eine Säure verwandelt, wodurch das gute Wachstum in Würze zu erklären ist.

Was die Oxydationsfähigkeit Alkoholen gegenüber betrifft, so ist diese bei einzelnen Arten sehr verschieden. Als energische Essigbildner erwiesen sich B. Kützingianum, aceti, acetosum, Pasteurianum, Termob. aceti, weniger xylinum. B. acetigenum und B. oxydans bildeten nur wenig Essig.

Der von B. acetigenum gebildete Essig zeichnet sich von den andern Arten durch seinen lieblichen Essigäthergeruch aus; bei Termob. aceti ist derselbe auch zu erkennen. Die genannten Essigbakterien scheinen sehr verbreitet zu sein.

Aus dem Flaschenrest aus untergärigen Bieren wurden Termob. aceti und B. oxydans isoliert; beide können das Bier stark trüben und unbrauchbar machen.

B. Pasteurianum, Kützingianum und acetosum finden sich besonders auf obergärigem Bier.

B. xylinum scheint, wenn es auch, wie Reinke angiebt, auf obergärigem Bier (Berliner Weifsbier) sich findet, besonders Wein zu bevorzugen. B. acetigenum dagegen ist bisher nur in dem Essig einer Schnellessigfabrik gefunden worden.

B. industrium hat mit B. oxydans manche Eigenschaften gemeinsam. Es bildet Schwärmzellen und vermag ebenfalls Maltose zu oxydieren,

Bierwürze also sauer zu machen. Besonders charakteristisch für diese Art ist, dafs der erzeugte Essig stark aldehydhaltig ist, und dafs dextrinhaltige Lösungen, also unter gewissen Bedingungen auch Bier eine schleimige Konsistenz annehmen. Diese Art scheint in Brennereimaischen häufig zu sein und durch seine Säurebildung Störungen hervorrufen zu können.

B. ascendens ist ausgezeichnet durch sein Bestreben, an der Gefäfswand hoch zu klettern. Dextrose wird nicht oxydiert, wodurch ein Unterscheidungsmerkmal von allen übrigen Arten gegeben ist. In den Kulturversuchen im Laboratorium bildet diese Art am meisten Essigsäure (über 8 %). In Wein und Weinessig scheint ihr Vorkommen häufig zu sein.

Rothenbach ist der Ansicht, dafs die Schnellessigbakterien acclimatisierte Organismen sind. Sie entwickeln sich nicht in der Tröpfchenkultur oder nicht in bemerkenswerter Weise. Sie bilden im allgemeinen keine Zoogloeen. Die Essigspäne eines normalen Bildners sind frei von jeglichen Schleimmassen. Selten kommen Andeutungen von zarter Häutchenbildung vor. In einem Bildner oder in einem System (2—3 Bildner) finden sich verschiedene morphologisch deutlich unterscheidbare Arten von kleineren, gleichen und gröfseren Dimensionen, wie die Hansenschen Essigpilze. Die Bakterien der A-, B- und C-Bildner stimmen untereinander überein, sie sind nur bei B und C an höhere Säuremengen gewöhnt. (Deutsche Essigindustrie 1897, No. 30.)

Beijerinck und Hoyer haben in letzterer Zeit eine gröfsere Anzahl Essigbakterien beschrieben und ein System aufgestellt, nachdem sich alle bisher beschriebenen und die von ihnen neu aufgefundenen Formen 3 Gruppen als Varietäten einordnen. Es sind dies Bieressigbakterien (B. rancens), Schnellessigbakterien (B. aceti Pasteur) und B. xylinum. Diese Einteilung beruht auf physiologischen Unterscheidungsmerkmalen.

Wie Hansen mit Recht hervorhebt, dürfte in diesem System zu wenig Wert auf die Abwesenheit oder Anwesenheit von Schwärmzellen und auf die Eigentümlichkeit, mit Jod sich blau zu färben, gelegt sein.

Hansen hat über die Lebensdauer und Variation der Essigbakterien neuerdings interessante Versuche veröffentlicht.

Das beste Konservierungsmittel ist danach Lagerbier, in dem sich die untersuchten Arten 7—10 Jahre lebend erhielten. Im getrockneten Zustand waren die Bakterien nur 5—12 Monate lebend.

Die stäbchenförmigen Bakterien der schleimigen Biere.

Die von van Laer näher studierten Erreger der schleimigen Gärung in den belgischen Bieren sind Stäbchenformen. Wie bei den

Sarcinaarten und den Essigsäurebakterien sind auch hier unter der nämlichen Zellform physiologisch unterscheidbare Arten versteckt. Auf Fleischsaftgelatine zeigten die Kulturen des Bacillus viscosus I und II Übereinstimmung. Bei schwacher Vergrößerung zeigen junge Kolonien derselben eine bräunliche Färbung; der Rand ist hell, während die mittleren Partien mit zunehmender Dicke der Schicht sich bräunlich färben. Die Strichkulturen wachsen in weifsen Streifen mit gehirnartiger Oberflächenfaltung. Eine Verflüssigung der Gelatine findet nicht statt. Ist der letzteren 6% Glukose beigemischt, dann kann man bei 27° C. in der flüssig gewordenen Gelatine eine Gasbildung wahrnehmen. Es entweicht Kohlensäure.

B. viscosus I ruft nach 24 Stunden in steriler Bierwürze schon einen schleimigen Zustand hervor; nach 48 Stunden ist sie wie Eiweifs zähflüssig. Zu gleicher Zeit entweichen Kohlensäureblasen. Nach 3 Tagen war die Viskosität so stark, dafs 50 ccm auf 18° C. abgekühlter Würze 180 Sekunden gebrauchten, um eine 3 mm weite Öffnung des Viskosimeters zu passieren, während die ursprüngliche Würze in 19 Sekunden durchlief. Die Oberfläche der Würze bedeckt sich mit gelblich-weifsen, schleimigen Inseln, die nach abwärts Äste entsenden. Bei B. visc. II ist die Kohlensäurebildung geringer, die Deckenbildung bleibt fast ganz aus. Viskosität = 70.

In verschlossenen Flaschen erzeugt I schleimige Flocken, II nicht. Die Stäbchen bilden in diesem Schleim auch Sporen aus (Abb. 221g).

In Würzegelatine findet fast gar kein Wachstum statt.

Auf Milch bildet sich eine gelblich-grüne, klebrige Decke, und die darunter liegende Flüssigkeit erscheint auch grünlich. Das Kaseïn wird allmählich vollständig gelöst. Auf Kartoffelscheiben gedeihen die Bakterien sehr gut und bilden weifse Kolonien mit warziger, schleimiger Oberfläche. Die Kultur riecht nach faulen Fischen.

Die Pasteursche und Mayersche Nährlösung wurden beide zähflüssig, ohne dafs Zucker zugegen war.

In Würze ist die Schleimbildung erst bei 7° C. möglich, Optimum-Temperatur 33°, Maximum-Temperatur 42° C. Würze, die 2 Stunden nach der Impfung mit einem Gemisch von I und II mit Hefe angestellt wurde, gab ein wie Milch und Kaffee aussehendes, fadenziehendes Bier, das sich selbst nach 2monatlicher Lagerung nicht verbesserte. Eine nach der Hauptgärung erfolgte Impfung erwies sich vollkommen unschädlich. Darnach wäre in der Praxis vor allem ein längeres Stehen der Würze auf dem Kühlschiff zu vermeiden, da hier diese Organismen einfallen können, ferner die Verwendung von Hefe, die letztere schon enthält.

Biere mit viel assimilationsfähigen Stickstoffsubstanzen, besonders Peptonen neigen besonders zur Krankheit, ferner solche Biere, die zu

stark vergoren sind und keinen Zucker mehr enthalten, resp. keine Kohlensäureentwicklung mehr geben. In zuckerfreien Flüssigkeiten ist die Schleimbildung eine ungestörtere. Die Vermehrung des natürlichen Gehalts der Würze an Milchsäure von 0,102 % um 0,05 % vermochte schon die Schleimbildung nicht aufkommen zu lassen.

Bei einem Gehalt der Würze an 0,2 % Salicylsäure wurde dieselbe noch schleimig, ebenso bei einem Gehalt von 6 Volum-Prozent Alkohol.

Der bei der Gärung gebildete Schleim besteht aus einer in Wasser unlöslichen, stickstoffhaltigen und einer löslichen, stickstofffreien Substanz; letztere ist in absol. Alkohol unlöslich und färbt sich durch Jod gelb; konzentrierte Kalilauge löst sie schon in der Kälte und giebt damit in der Wärme eine gelbliche Färbung. Über einen dritten aufgefundenen Bacillus viscosus, der von dem vorigen sich durch Verflüssigung der Fleischsaftgelatine unterscheidet, fehlen noch nähere Angaben.

Anhangsweise möge hier noch des Bacterium vermiforme (Ward) Erwähnung gethan werden. Es ist der wesentliche Bestandteil der sog. Gingerbeer-Plant. Es bildet stäbchenförmige Zellen mit starken Schleimhüllen, die zwischen sich Hefenzellen aufnehmen und mit diesen bis zu haselnufsgrofsen Körnern heranwachsen, ähnlich den Kefyrkörnern. Die Schleimhüllen sind bis 10 mal so breit als die Zellen selbst. Die Länge der letzteren schwankt zwischen 0,5—50 μ, die Breite ist durchschnittlich 0,5 μ. Ward hat die Hefe wie die Bakterie isoliert und dann nach dem Vermischen beider Reinkulturen wieder die Gingerbeer-Plant entstehen sehen. Damit vergorenes Zuckerwasser, dem Ingwer zugesetzt ist, giebt das sogenannte Ingwerbier. Die durch das Bakterium gebildete Säure ist Milchsäure. Ein Verschleimen der Flüssigkeit findet nicht statt.

Nachtrag.

Die Nathanschen Glasemaille-Reinzuchtapparate und das Nathansche Bierherstellungsverfahren im „Hansena"-Apparat.

Bei seinen Studien und praktischen Versuchen über Weingärungen, speciell der Frucht- und Schaumweine, hat es der bekannte Gärungsphysiologe Nathan in Zürich für unbedingt nötig erachtet, die Berührung einer gärenden und schwachsauer reagierenden Flüssigkeit mit Metall nach Möglichkeit zu vermeiden. Dies führte ihn zu der Gärung in glasemaillierten Gefäfsen. Auf seine Anregungen hin ist es Herrn Hans Bolze, Generaldirektor der Mannheimer Eisengiefserei- und Maschinenbau-A.-G. gelungen, gufseiserne Gefäfse bis zu 10000 Liter Inhalt aus einem Gufs herzustellen und deren Innenwände bei hoher Temperatur mit einer säure- und temperaturfesten Glasemaille zu versehen. Die unterste Schicht ist porzellanartig weifs und mit den darüberliegenden vier Schichten aus reinem Glas zu einem Ganzen verschmolzen.

In solchen riesigen Gefäfsen ist nun auch Bierwürze zu gären versucht worden, und zwar zunächst in der Gambrinusbrauerei des Herrn Kramm in Zürich.

Verfasser dieses Buches hat Gelegenheit gehabt, eine solche Gärung von Anfang bis zu Ende — im ganzen sechs Tage — zu verfolgen und das Bier davon zu kosten. Da das Ergebnis, trotz der noch etwas provisorischen Arbeitsweise, über alles Erwarten gut ausfiel, ist er zu der Überzeugung gelangt, dafs das Verfahren eine wichtige Reform in der Bierbereitung bedeutet.

Da die Gärung in vollkommen geschlossenen Gefäfsen durchgeführt wird, kann sie absolut rein gehalten werden — die Infektionsfrage wird dadurch ausgeschaltet. Die Gärgefäfse stellen nunmehr selbst grofse Reinzuchtapparate dar. In Anbetracht dieses Umstandes hat der Erfinder den Hauptapparat zu Ehren Emil Christian Hansens, des grofsen Reformators auf dem Gebiete der Reingärung, „Hansena" benannt.

Die nebenstehende Zeichnung, die mir Herr Nathan in dankenswerter Weise zur Verfügung gestellt hat, zeigt die Aufstellung des ganzen Systems.

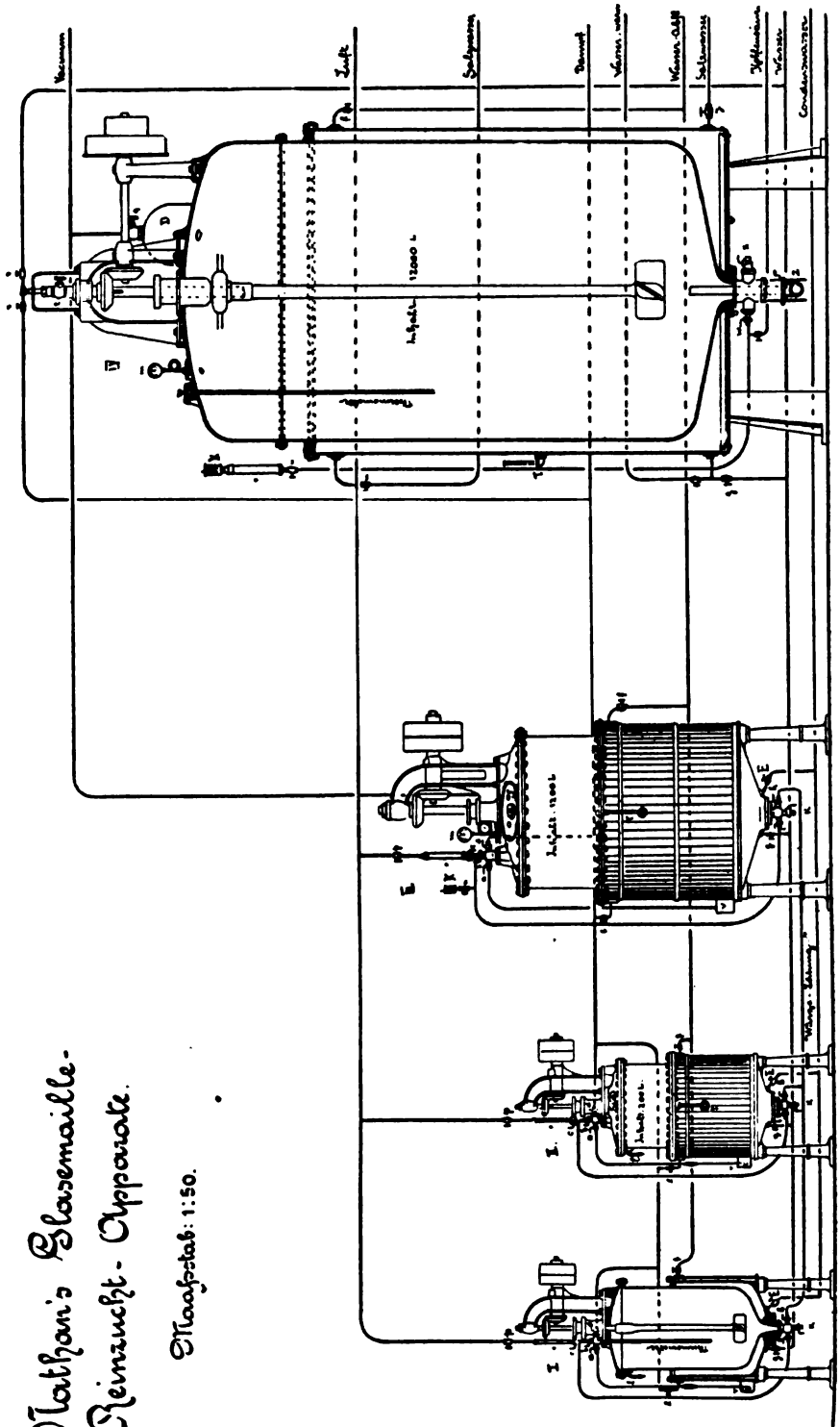
Links zwei kleine Reinzuchtapparate von je 200 Liter Inhalt; weiter rechts ein solcher von 1200 Liter und endlich der Hauptapparat von 12000 Liter Inhalt.

Sämtliche Apparate sind nach demselben Schema gebaut.

Das Hauptgärgefäfs ist bis zu $^2/_3$ Höhe von einem schmiedeeisernen Mantel umgeben, in welchem je nach Bedarf Dampf, Brunnen- oder Salzwasser eingeführt werden kann.

Die Würze wird in den Apparaten, die auf drei Atmosphären geprüft sind, sowohl sterilisiert, abgekühlt, und auch vergoren.

Zum Impfen und Lüften (mit filtrierter steriler Luft) sowie zum Abführen der Kohlensäure sind die nötigen Vorkehrungen getroffen, die von der Beschreibung der älteren Reinzuchtapparate her bekannt sind.



Nathan's Glasemaille-Reinzucht-Apparate.

Maßstab: 1:50.

Beim dritten und vierten Apparat ist noch eine Verbindung mit einem Vakuumregulator hergestellt; mittelst desselben kann die Gärungskohlensäure abgesaugt werden, resp. bei gleichzeitiger Öffnung des Durchlüftungsrohres Luft angesaugt werden.

Im Innern der Apparate ist nur das emaillierte Rohr für das Thermometer und der lange, mit vier schräg gestellten Flügeln versehene und ebenfalls emaillierte Quirl zu sehen. Der massive Quirl ist an einem Hohlstück festgeschraubt, durch welches Dampf und Wasser in den Apparat eingeführt werden kann (siehe Apparat IV). Wie der Antrieb mittelst Zahnräder geschieht, ist ebenfalls aus der Zeichnung ohne weiteres zu ersehen.

Unterhalb des Quirls besitzt der konisch verjüngte Boden eine Öffnung mit darunter befestigtem Rohrkreuzstück. Links kann Luft resp. Kohlensäure eingeführt werden, rechts ist ein Stutzen zur Entnahme von Gärproben. Unten wird die Würze eingeführt durch ein stark versilbertes Rohr, das durch eine Stopfbüchse geht und auf-, bezw. abwärts geschraubt werden kann. Durch dieses Rohr kann auch das Bier abgeführt werden, ohne dafs die gegebenenfalls zum Absitzen gekommene Hefe mitgerissen wird.

Druckluft wird nur in die Apparate I—III eingeführt (siehe Bezeichnung der Rohrleitungen rechts); ehe sie in die Apparate kommt, streicht sie durch die Wattefilter o und das Würzestandsrohr e, das ganz links zu sehen ist. Sie entweicht aus dem Apparat durch das rechts daneben gezeichnete gebogene Rohr, das in ein untergestelltes Wassergefäfs v eintaucht.

Mit dem gärenden Inhalt von I oder II wird III geimpft, und sobald hier die 1000 Liter Würze in Gärung sind, werden dieselben nach dem „Hansena"-Apparat hinübergedrückt.

Hier ist der Verlauf ungefähr folgender:

Anstelltemperatur 10—15° C. In den ersten Tagen wiederholtes Lüften und periodisches Quirlen; dazwischen drei- bis vierstündige Ruhepausen. Sobald Kohlensäure gebildet wird, wird auch ein Vakuumregulator in Thätigkeit gesetzt. Nach 3—4 Tagen sucht man sowohl die Jungbouquette, als auch die im Bier noch vorhandene Luft zu entfernen, indem man mit Kohlensäure durchlüftet. Ob der unreife Geruch verschwunden, riecht man beim Abzugsrohr des Vakuumregulators.

Ist kein unreifes Bouquet mehr wahrzunehmen, so beginnt man das Bier zu kühlen bis auf 1—0° C. Alsdann wird nochmals Kohlensäure eingeleitet, jedoch wird das Vakuumrohr verschlossen, damit das Karbonisieren unter dem nötigen Druck vor sich gehen kann. Durch Quirlen wird die Aufnahme der Kohlensäure beschleunigt.

Nun läfst man das Bier 1—2 Tage lang ruhig stehen, nachdem man vorerst durch ganz langsames Quirlen die Hefe zur gröberen Flockenbildung angeregt hat.

Durch das versilberte Rohr wird dann das Bier abgezogen.

In den „Hansena"-Apparaten kann das Bier schliefslich auch durch allmähliches Anwärmen pasteurisiert werden. —

Nach der Entleerung des Apparates wird derselbe mit Wasser ausgespritzt, welches durch die hohle Welle, an welcher der Quirl befestigt ist, eintritt.

Auf demselben Wege kann nachher auch Dampf eingelassen werden. Ist die Wandung nicht mehr rein weifs — durch Gucklöcher, die im Mannlochdeckel angebracht sind, kann man sich davon überzeugen —, dann wird letzterer abgeschraubt und das Innere mit Bürsten gereinigt.

Namen- und Sachregister.

	Seite
Aberration, chromatische	13
— sphärische	14
Achromate	13
Acremonium	308
Acrostalagmus	308
Adametz	390
Aderhold	406. 408
Adhäsionskultur	265
Algen	44
Alternaria	146. 308
Amöben	57
Amöbenförmige Hefe	330
Amylase	115
Amylomyces	322
Anchylostoma	72
Anemometer	241
Anstellhefe, Untersuchung der	263
Apochromate	13
Apodya lactea	47
Artari	399
Aspergillus-Arten	315
Aspergillus Oryzae	317
— clavatus	146
— glaucus	146
Aspidiotus	80
Atmungsfiguren	225
Atterberg	110
Auerbach	23
Auge, Vom	8
Aufgufstierchen	67
Autoklaven	132
Auxanographische Methode	217
Bacillus subtilis	421
— viscosus	456
Bacterium aceti	448
— Pasteurianum	448
— Termo	417
— vermiforme	457
Baer	19
Bail	17
Bakterienkolonien	229
Bakterienkunde	408
Balantidium	69
Bandwürmer	72
de Bary	25
Bau	87. 360
Beggiatoa	47
Behrens	321
Berlese	272
Beijerinck	7. 60. 117. 217. 226. 406
Bier, Keimgehalt im	255
Biologische Betriebskontrolle	227
Blattläuse	77
Bodensatzprofile	211
Bombenwerfer	144
Boussingault	79
Brandpilze	283
Brauereihefen	350
Brebeck	385
Brefeld	22. 25. 325
Bremsen	89
Brennereihefen	359
Brown, Robert	19
Buchner	224. 336
Bursariden	69
Büsgen	77
Cagniard de Latour	17
Calandra	90

	Seite
Caron	267
Chaetocladium	145
Chlamydosporen	150
Chlorophyll	2
Cienkowski	59
Citromyces	313
Cladophora	50
Cladosporium	228. 310
Cladothrix	48
Clostridium	423
Cohn	23
Coprinus	145
Crenothrix	48
Cremer	335
Croft Hill	201
Cuboni	263
Cyanophyll	6
Cytase	114
Daphniakrebs	71
Dasselfliegen	87
Dauerzellen	188. 333
Degenerieren der Hefe	346
Delbrück	202. 365
Dematium pullulans	289
Demodex	84
Dennhardt	369
Desmazières	17
Desmidiaceen	55
Dextrinvergärung	358
Diastase	115
Distomum	73
Doemens	369
Doppelfärbung	337
Duclaux	390
Dujardin	23
Dutrochet	19
Effront	115. 336. 358
Ehrenberg	20. 24
Einhorn	135
Eiweifsreaktionen	336
Eiweifstrübung	244
Elodea	56
Emmerling	201
Endoblastodermagruppe	385
Endvergärung	202
Enzyme der Gerste	114
— der Hefe	198
Epicoccum	229. 309
Epistylis	69
Ernährungsbedingungen der Hefen	216
Essigälchen	73
Essigfliege	86
Essigmilbe	85
Essigsäurebakterien	448
Euglypha	66
Eurotium	315
Eykmann	401
Färbung der Hefezellen	337
Fischer	385
— Emil	191. 199
Flächenkultur	176
Flagellaten	66
Fleischsaftgelatine	141
Flockige Hefe	339
Frank	123
Fränkel, C.	273
Fruchtätherhefen	108. 380
Fusarium solani	124
Fusisporium	146. 302
Gärkraftbestimmung	220
Gärungserscheinungen	210
Gärversuche im hohlen Objektträger	189
— in Bierwürze	202
Geifselinfusorien	66
Gelatineverflüssigung	177
Gemmen	150. 319
Generatio aequivoca	20
Gerbsäurereaktion	334
Gerste	99
Gerstevarietäten	109
Getreideschmalkäfer	95
Gipsblockkultur	183
Gingerbeer-Plant	457
Glockentierchen	68
Gloeocapsa	55
Glukase	117. 198
Glutintrübung	244
Glykogen	335
Granulase	117
Granulobakterien	423
Grew	16
Grönlund	389
Gronow	209
Grüfs	199
Gummitrübung	246
Gurkenlake	364

Seite

Hall 18
Hansen 25. 273. 338. 363. 366
— Methoden der Reinkultur . 154. 155
— -Kühles Reinzuchtapparat . . . 166
— Wasseruntersuchung 235
— Luftuntersuchungsmethode . . 239
Hartig 81
Harztrübung 244
Haselstrauch 17
Hautbildung 187. 352
Hayduck 346
Hedwig 24
Hefe Logos 204. 397
— Reinkultur der 151
— Massenvermehrung der 157
— genauere Charakteristik der . . 172
— Degenerieren der 346
— Frohberg (s. Hefe Nr. 19) 204. 344. 369
— Saaz (s. Hefe Nr. 6) 204. 210. 344. 369
— Verhalten gegen Zuckerarten . 191
Hefeenzyme 198
Hefeglukase 198
Hefekolonien 229
Hefekonservierung 337
Hefekunde 324
Hefepreſssaft 224
Hefereinzuchtapparate 157
Hefezählapparat 138
Hefen der Brauereien 350
— der Brennereien und Preſshefen-fabriken 359
— der Weingärung 406
— Gärversuche mit 189
(Siehe Tabelle I und II.)
— wilde 363
— der Berliner Sammlung[1]).
Nr. 1 . . . . . t_2 211
„ 2 . . . . . $t_{1,2}$ 211
„ 3 . . . . . t_1
„ 4 . . . . . t_2 211
„ 5 . . . . . $t_{1,2}$ 211
„ 6 . . . $t_{1,2}$, T_3 204. 210. 344. 369
„ 9 . . . . . t_1
„ 10 . . . . . t_2 211
„ 11 . . . . . $t_{1,2}$
„ 15 . . . . . t_1 213
„ 19 . . . t_1, T_3 204. 210. 344. 369
„ 23 . . . . . t_1

Seite

Hefen der Berliner Sammlung[1]).
Nr. 25 . . . . . t_1, T_3 349
„ 26, „ 27 . . . . . t_1 214. 216. 370
„ 28 . . . . t_1, T_3 214. 216. 370
„ 29 . . . . . $t_{1,2}$ 216
„ 30 . . . . . t_1
„ 32 . . . . . $t_{1,2}$
„ 33 . . . . $t_{1,2}$ 204. 210. 216
„ 34 . . . . . t_1
„ 35 . . . . . t_2, T_3 204. 210. 211
„ 39, „ 40 369
„ 41 . . . . . t_1 370
„ 43 . . . . . 369. 370. 371
„ 44 . . . . . T_3 369. 370. 371
„ 45 369
„ 46 . . . . t_1 214. 216. 369. 370
„ 47 . . . . . 370. 371
„ 48 . . . . . T_3 369. 370. 371
„ 49 . . . . . T_3 373
„ 51 t_1 182. 211. 214. 369. 370. 371. 372
„ 52 . . . . . t_1 369. 370. 373
„ 53 . . . . . t_1, T_3 369
„ 59 . . . . . T_4 377 ff.
„ 60 . . . . . T_3 389
„ 61 . . . . . T_3
„ 62 393
„ 63, „ 64 . . . . . 389. 390. 392
„ 66 . . . . . 377. 378. 379. 386
„ 67 . . . T_4 377. 378. 379. 386
„ 68 . . T_4 377. 378. 379. 386. 393
„ 69 . . . . . 377. 378. 379. 386
„ 70, „ 71 . . T_4 377. 378. 379. 386
„ 72, „ 73, „ 74 393
„ 75 . . . . . T_4 196. 378. 381
„ 76 . . . . . 196. 330. 395
„ 77 . . . . t_2, T_3 204. 351. 362
„ 78 . . . . . t_1
„ 79 . . . . . t_1, T_3 351. 362
„ 80 . . . . t_2, T_3 204. 351. 362
„ 81 . . . . . t_2
„ 82 . . . . . T_4 377 ff.

[1]) t bedeutet: Tabelle der Gärversuche. T bedeutet: Tafel (Lichtdruck).

Hefen der Berliner Sammlung [1]).	Seite
Nr. 84	t_1
„ 85	t_2 T_3 351. 362
„ 86	t_1, T_3
„ 87	t_1
„ 89	369. 371
„ 91	369
„ 99	196
„ 101	377 ff.
„ 102	T_4 377 ff.
„ 105	369
„ 107	369. 371
„ 109	t_1
„ 115	t_1 369
„ 116, „ 117, „ 118	369
„ 119	t_1 369
„ 121	T_3 369
„ 122	369
„ 125	T_4 196
„ 126	196. 382
„ 127	377 ff.
„ 128	t_2, T_3 204. 351. 362
„ 129	T_3 204. 351. 362
„ 130	t_2, T_3 204. 351. 362
„ 131	t_2 351. 362
„ 132	211
„ 133	t_2 351. 362
„ 134, „ 135, „ 136, „ 137, „ 138	t_2
„ 139	t_2
„ 140	t_2
„ 141	t_1
„ 142	t_1, T_3 351
„ 143	t_1 351
„ 153	378
„ 163	t_1
„ 170	T_4 377 ff.
„ 173	196. 204
„ 174, „ 175	t_1
„ 177	T_4 377 ff.
„ 178	377 ff.
„ 183	349

Hefen der Berliner Sammlung [1]).	Seite
Nr. 195	378
„ 197	T_4 382. 390
„ 198	390. 391
„ 199	196. 398
„ 220	351
„ 225	348
„ 235	T_3 369. 373
„ 236	369. 372
„ 237, „ 238, „ 240, „ 241, „ 243	369
„ 250	196. 377. 383
„ 252	378. 379
„ 253	393
„ 254	390. 392
„ 267	377. 378
„ 268	377. 379
„ 271, „ 272	196. 378
„ 288	393
„ 289	389. 390. 392
„ 290	393
„ 292	369
„ 300	390. 392. 393
„ 313	T_4 378
„ 317	393
„ 323	369
„ 324	390
„ 354	196. 390. 392
„ 358	378
„ 362	T_4 378
„ 368	369
„ 370	196. 395
„ 377	369
„ 380	393
„ 382, „ 383	390. 392
„ 384	389. 390. 391
„ 394	196
„ 401	T_4
„ 408, „ 429, „ 431, „ 461, „ 497	196

[1]) t bedeutet: Tabelle der Gärversuche. T bedeutet: Tafel (Lichtdruck).

Seite

Hefen der Berliner Sammlung.
Nr. 518 393
„ 539 } 369
„ 540 }
„ 570 . . . . . 196. 395
„ 571 196
„ 576 369
„ 577 196
„ 604 } 369
„ 605 }
„ 606 } 196
„ 621 }
„ 645 393
Henneberg 60. 75. 87. 384
Herzfeld 361
Heubacillus 421
Hieronymus 331
Hoffmann 268
Hofmeister 22
Holzner 22
Holzwespen 98
Hooke 15
Hopfen 17. 125
Hormodendron 310
von Huth 436
Hyphe 149

Immersionssystem 27. 31
Impfstichkultur 175
Impfstrichkultur 175
Infektionsquellen 266
Infusionstierchen 67
Ingwerbier 457
Inulase 198
Invertin 198
Irmisch 202. 209

Janſsen 331
— Johannes und Zacharias . . . 14
Jörgensen 293. 369
Jungfernzeugung 78

Kahmhautbildung 187. 375
Kahmhefen 374
Kalanthar 394
Karotin 6
Kartoffel 121
Kayser 390
Kefyrhefe 390
Kerzenschimmel 304
Kieselalgen 53
Kleistertrübung 244
Klöcker 293
Koch, Alfred 335
— Robert 25. 239
Kochscher Dampftopf 132
Kochsche Fleischsaftgelatine . . . 141
— Plattenkultur 152. 262
Kontrolle des Reinzuchtapparates . 247
Kornkäfer 90
Kornmotte 95
Krankheitshefen 364
Krätzmilbe 83
Kräusenbildung 210
Kreidenährboden Beijerincks . . . 226
Kruis 352
Krystalle von oxalsaurem Kalk . . 243
Kühne 23
Kützing 17
Kugelhefen 387
Kukla 346
Kultur auf dünner Gelatineschicht 176
Kulturhefen 342
Kusserow 221
Kutscher 198

van Laer 204. 358. 413
Lafar 263
Landolt 171
Lange 216. 222
Lasché 246. 413
Laktase 198
Lebensdauer der Hefe 337
Leeuwenhoek 15
Leichmann 426. 429
Leptomitus 47
Lermer 23
Liebigs Mikrokosmos 45
Lindner, Tröpfchenkultur nach . . 148
— Tropfenkultur nach 155
— kleiner Reinzuchtapparat . . . 159
Lindner-Pests Reinzuchtapparat . . 167
Link 17
Linné 16
Lintner, J. C. 334
Lippersheim 14
Logos, Hefe 204. 396
Lopriore 311
Lott 286
Luftcylinder 227
Luftfilter 240
Lufthyphen 149

	Seite
Luftpumpe (Petri)	135
Luftuntersuchung	227
— nach Hansen, Lindner, Petri	237
Mais	17
Malpighi	15
Maltase	115
Malzstärke	43
Marpmann	142
Matthes	398. 436
Matthews	286. 302
Markieren der einzelnen Zellen	149
Massenkultur von Hefen	157
Meifsl	221
Meifsner	334. 409
Melibiase	198
Meltaupilze	283
Methylenblau	237
Metschnikoff	329
Meyen	17
Mierau	420
Mikroskop, das	26
Mikroskopiertisch	126
Mikrophotographie	25
Milben	81
Milbenspinne	82
Milchsäurebakterien	425
Milchzuckerhefen	196. 398
Millons Reagens	245
Miquel	240
Mirbel	18
Mohl	23
Möllersches Luftfilter	240
Möller	331
Morris	358
Monilia candida	293
— variabilis	295
Monospora	329
Mucor-Arten	229. 319
Mucor stolonifer	146. 319
— racemosus	150. 321
— Mucedo	144. 321
— δ- und β-Amylomyces	322
— Rouxii	322
Mukorhefe	150. 319
Munsche	255. 369
Mycoderma cerevisiae	374
Mycodermakammern	225
Mycelium	149
Nachgärungshefen	369
Nägeli	23
Nathan	458
Nematodenfäule	77. 124
Netzbildung der Hefe	341
Nostoc	55
Nukleïnausscheidungen	246
Oberflächenaussaat	175
Objektive	27
Oidium lactis	284
— lupuli	286
— pullulans	286
Okulare	27
Opalinen	69
Ophridium versatile	69
Oppler	430
Oscillaria, Schwingfaden	45
Oxalsaurer Kalk	243
Oxydase	199
Panumscher Thermostat	133
Pappritz, Luftfilter	240
Parenchym	16
Pasteur	21
Pasteurkolben	128
Pediastrum	51
Pediococcus acidi lactici	429
— sarcinaeformis, cerevisiae, albus, viscosus	432
Penicillium glaucum	228. 311
— cladosporioïdes	310
— radiatum	314
Persoon	17
Pest-Lindners Reinzuchtapparat	167
Petri, Luftpumpe	135
— Sandfilter	135
Petrischalen	131
Pferdeäpfel, Pilzbildung auf	144
Phellomyces sclerotiophorus	123
Physarum	62. 63
Phytophthora	124
Pilobolus	144. 321
Pinselschimmel	311
Plasmodium	65
Plattenkultur	152. 262
Pleurococcus	51. 55
Prefshefen	359
Prior	205
Probeobjekte	34
Protomonas amyli	59
Protoplasma	23
Protozoen	57

Seite

Purkinjesche Aderfigur 10
Pyknidenpilz 306

Rädertierchen 71
Raimann 352
Raspailsche Reaktion 245. 336
Rasse II (s. Hefe 128).
Rees 25
Reichard 412
Reinke 442. 443. 452
Reinkultur der Schimmelpilze . . 148
— der Hefen 150
Reinzuchtapparat, Kühle-Hansen-scher 165
— kleiner Lindnerscher 159
— Pest-Lindnerscher 167
— von Elion 170
— von Pohl-Bauer 170
— von Bergh-Jörgensen 170
— von Wichmann 169
— von Nathan 458
Rhizoctonia solani 122
Riesenkolonien 178
Rivularia 55
Roggen 17
Röhrchenkultur 262
Rommel 322
Rostpilze 283
Rote Hefen 392
Rothenbach 363. 404
Rudolphi 17
Ruff 190
Rufstaupilze 283

Saare 319. 401
Saccharobacillus 426
Saccharomyces acetaethylicus . . . 382
— acidi lactici 399
— anomalus 381
— anomalus belgicus 382
— apiculatus 397
— apiculatus parasit. 81
— aquifolii 399
— Bailii 395
— cartilaginosus 196
— cerevisiae 17. 184
— Comesii 400
— cratericus 182
— Delbrücki 387
— ellipsoideus 184. 197. 369
— exiguus 397

Seite

Saccharomyces farinosus 381
— fragilis 398
— Hansenii 398
— hyalosporus 381
— Ilicis 399
— Jörgensenii 399
— Ludwigii 400
— Marxianus 399
— mellacei 403
— membranaefaciens 380
— minor 399
— Pastorianus 184. 197. 369
— Zopfii 399
Schiemenz 92
Schizosaccharomyces octosporus 196. 403
— mellacei 196. 403
— Pombe 402
— asporus 403
Sachsia albicans 289
— suaveolens 196
Sadebeck 325
Sarcinabakterien 429
Sarcinomyces albus, crustaceus . . 300
Scenedesmus 56
Skerst, O. v. 293
Scheidentierchen 68
Septosporium 146. 308
Schildläuse 77
Schimmelpilze 282
Schleiden 19
Schleimige Biere 412
Schleimpilzamöben 60
Schlupfwespen 94
Schmitz 330
Schneider 23
Schnell 443
Schostakowitsch 293
Schönfeld 256. 301. 443
Schokoladenfarbener Schimmel . . 315
Schreiner 10
Schukow 203. 305
Schulze 23
Schüppchen 101
Schwarze Hefen 394
Schwann 17. 19. 20
Schwefelbakterien 47
Schwingfaden 45
Silvanus 95
Sitnikoff 322
Sitophylus 90
Septosporium 308

	Seite
Sordaria	145
Spalthefen	400
Spaltungsversuche	50
Spirogyra	49
Sporenbildung	181
Spulwürmer	72
Stärke	32. 42
Stentor	67
Sterigmatocystis	315
Steuber	383
Sylvanus	95
Termobakterien	417
Termobacterium lutescens	417
— fuscescens	419
— album	419
— iridescens	419
— erythrinum	420
— aceti	453
Testobjekte	34
Tetranychus	82
Thamnidium	145
Thermoregulator	132
Thermostaten	132
Tinea	95
Törnell	256
Topf	246
Torula-Arten	387
Trehalase	198
Treviranus	17
Tribolium	95
Trinema	61
Tropfenkultur	155. 231
Tröpfchenkultur	148. 233. 250
Trub	244
Trypsin	198
Turpin	17
Tylenchus	77
Tyroglyphus	84
Ulothrix	51
Unger	23
Urbildungsstoff	23
Urtierchen	57
Urzeugung	20
Vaginicola	68
Vaselineinschlufspräparat	150
Vaucher	24
Vergärbarkeit von Zuckern	190
Vergärungsgrad	207
Vermehrungskoeffizient	368
Verzuckerung	44
Verticillium	307
Virchow	23
Virulenz	440
Vorticella	68
Ward	457
Wasseranalyse, biologische	235
Wasserkugelpilz	305
Wasserpest	56
Wattefilter	129
Wehmer	313
Weinbouquetschimmel	288
Weinhefen	406
Weizen	17
Wichmann	84. 169. 183. 236
Wilde Hefen	363
Will	81. 243. 248. 332. 337. 352. 385
Windisch	393
Winogradsky	424
Wolff	395
— Caspar F.	18
Wortmann	126. 409
Wroblewski	115
Würzebakterien	416
Würze, Keimgehalt der	231
— trübende Bestandteile der	243
Wysmann	116
Xanthoproteïnreaktion	336
Zacharias	330
Zeidler	381. 388. 394. 401
Zellhaut der Hefe	339
Zellkern der Hefe	330
Zoebl	310
Zuckerarten, Vergärbarkeit der	190
Zuckermilbe	84
Zuntz	420
Zygospore	49
Zymase	198

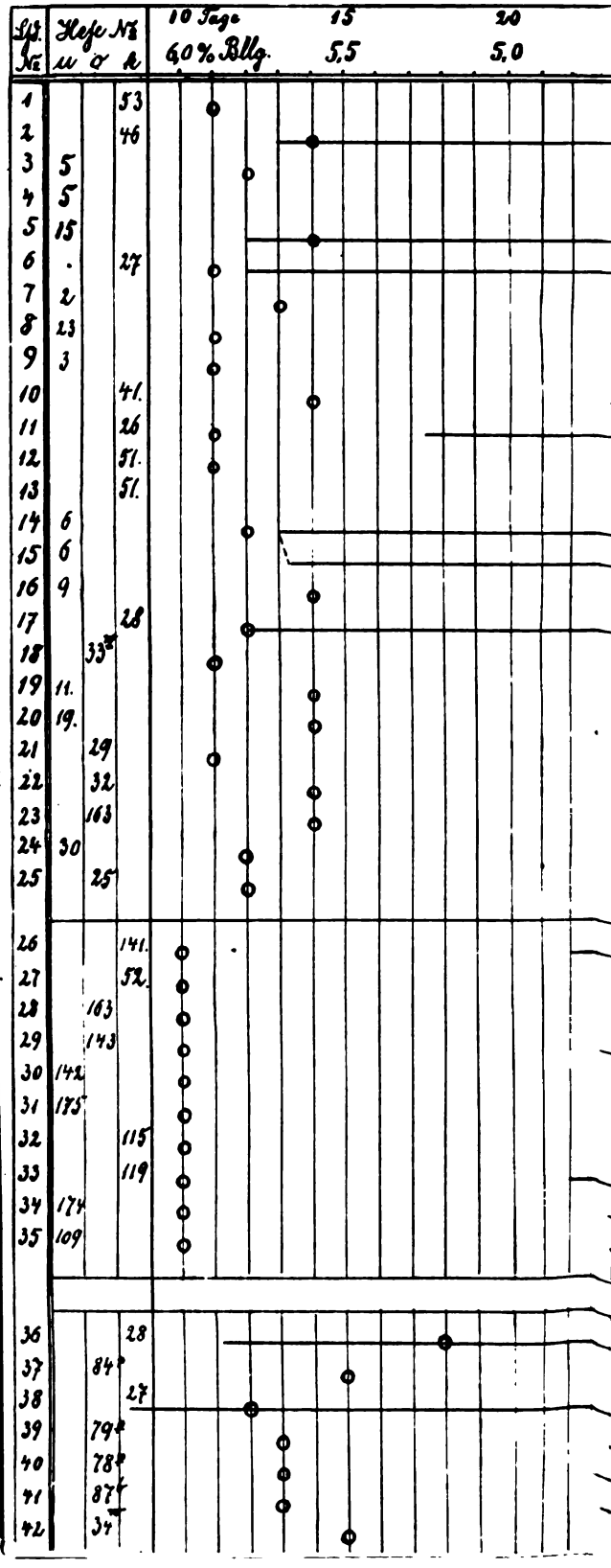
u bedeutet untergärig
o „ obergärig
k „ Krankheitshefe
p „ Prefshefe
b „ Brennereihefe
w „ Weifsbierhefe

Würze in sämtlichen Versuchen dieselbe; Saccharometeranzeige 11,95 % B.

In Versuch 1—35 sind je 650 ccm Würze zur Gärung gebracht, in Versuch 36—45 1350 ccm Würze.

Die Gärungen, welche am frühesten unterbrochen wurden, hatten am ersten mit der Kohlensäureentwicklung aufgehört. Die Zeichen für die Gärdauer können annähernd als Mafsstab für den mehr oder weniger schnellen Gäranlauf gelten, mit Ausnahme bei den Versuchen 26—35, die gleichzeitig unterbrochen wurden.

No. 43, 44 und 45 sind in dieser Tabelle ausgelassen.



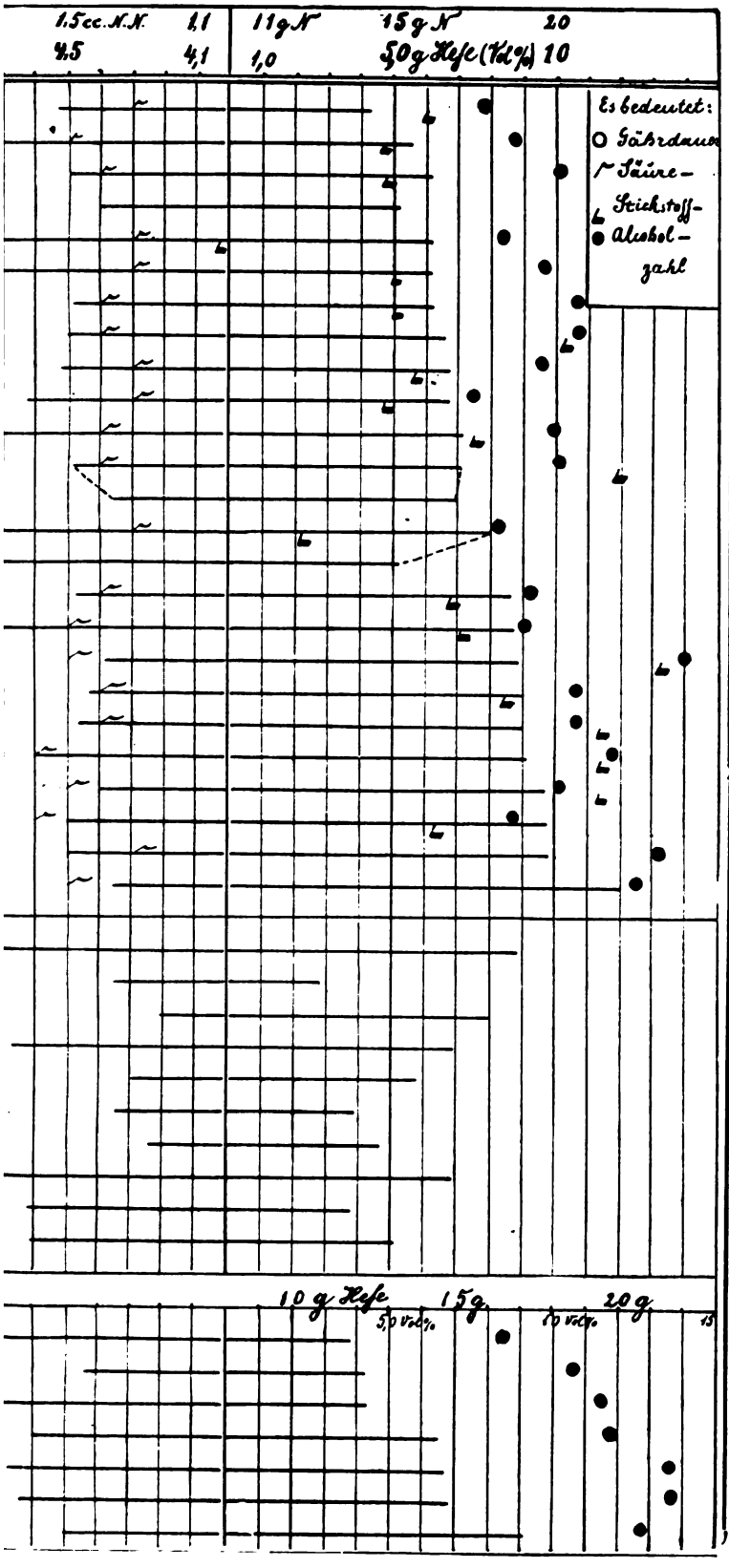


Tabelle I.

Erläuterung: Die horizontalen Linien links vom dickeren Vertikalstrich in der Mitte stellen den im entkohlensäuerten Bier noch vorhandenen scheinbaren Extrakt (Balling) dar. Die Verlängerung desselben Striches nach rechts stellt die geerntete Hefenmenge in g dar.

Die leeren Kreise bezeichnen die Dauer des Gärversuches nach Tagen.

Die vollen Kreise bezeichnen die Alkoholmenge in Vol. %, welche durch Vergärung einer ca. 29 %igen Maltoselösung in einem besonderen Gärversuch von der betr. Hefe gebildet wurden.

Der dünne Hakenstrich über dem Horizontalstrich giebt an, wieviel ccm Normal-Natronlauge zur Neutralisation von 100 ccm vergohrener Würze gebraucht wurden.

Die dicken Hakenstriche unter den Horizontalstrichen geben an, wieviel g Stickstoff durch die Hefe aus der Würze während der Gärung herausgeholt worden sind (auf 100 Liter Würze berechnet).

Beispiel: In Gärversuch No. 1 mit Hefe 53 (einer Krankheitshefe, daher unter k) verblieb nach 11täg. Gärung ein scheinbarer Extrakt von 4,52° Balling und resultierten 4,2 g gepreſste Hefe aus 650 ccm Würze von 11,95 % Balling. Zur Neutralisation von 100 ccm Bier waren 1,3 ccm N.N. erforderlich.

Aus 100 ccm 29 %iger Maltoselösung wurden bei einem besonderen Gärversuch 8 Vol. % Alkohol erhalten.

Bei den Gärversuchen 36—45 vom Februar 1890 sind je 1350 ccm derselben Würze vergoren worden; die Hefenernten sind daher gröſser ausgefallen.

Im Versuch 36 beträgt dieselbe z. B. 11,8 g. Die vollen Kreise haben hier aber dieselbe Bedeutung wie oben behalten. Auch die Horizontalstriche links stellen keine neuen Gröſsen dar.

u bedeutet untergärig
o „ obergärig
k „ Krankheitshefe
p „ Prefshefe
b „ Brennereihefe
w „ Weifsbierhefe

Saccharometeranzeige der Anstellwürze in Versuch 46—66 **12,5 % B.**

46, 49, 52 u. s. w. bilden die erste Versuchsreihe vom 27./4. 1889,

47, 50, 53 u. s. w. die zweite vom 10./5. 1889,

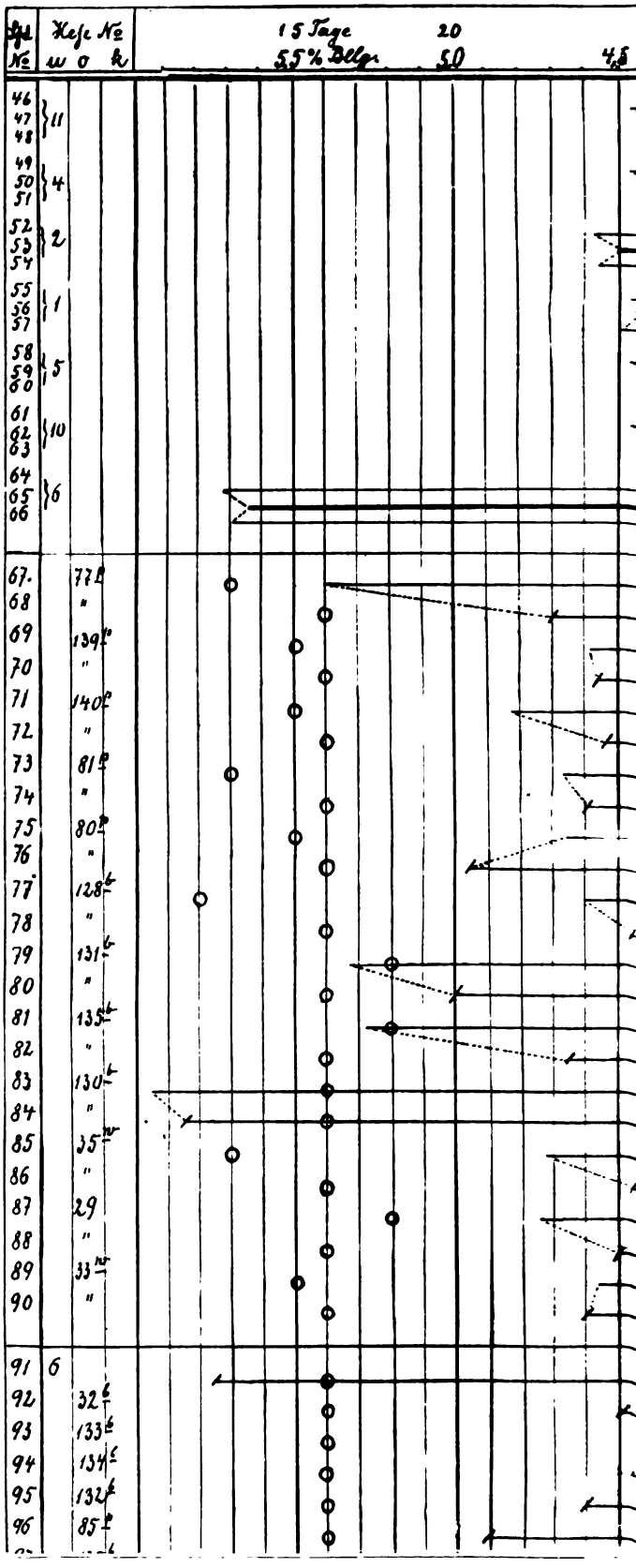
48, 51, 54 u. s. w. die dritte vom 22./5. 1889.

Die Anstellwürze für die Versuche 67—99 ist die gleiche wie in Tabelle I, also **11,95 % B.**

Anstellwürze **11,95 % B.**

Versuche vom Februar 1891. Die Gärungen mit 1350 ccm Würze sind gleichzeitig unterbrochen worden.

Die No. 97, 98 und 99 sind in dieser Tabelle ausgelassen.



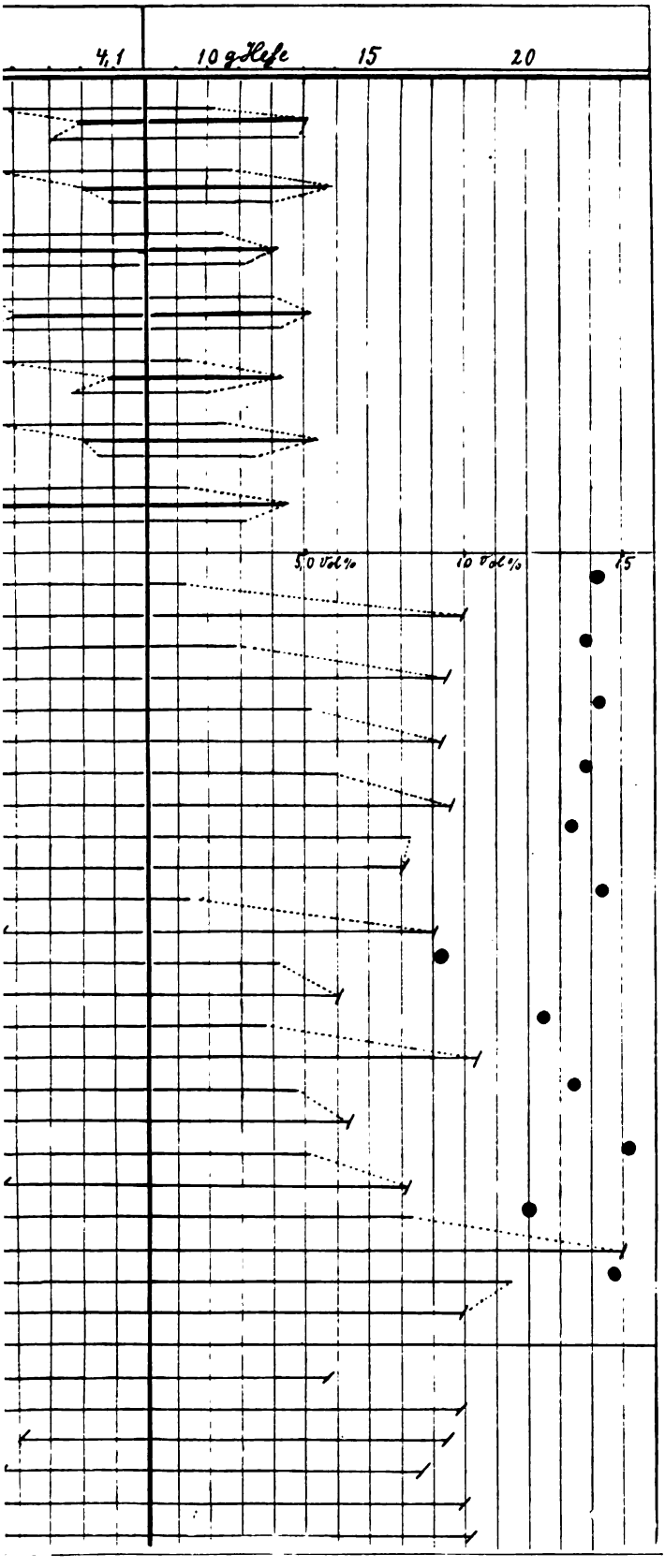


Tabelle II.

Erläuterung zu No. 46—66. Die horizontalen Linien links von dem stärkeren Vertikalstrich beziehen sich auf die Saccharometeranzeige im entkohlensäuerten Bier nach Unterbrechung der Gärung, die horizontalen Linien rechts auf die Hefenernten. Die horizontalen Linien sind zu dreien gruppiert. Die oberste Linie bezieht sich auf die erste, die mittlere auf die zweite und die unterste auf die letzte Gärung mit der betreffenden Hefe. Wollen wir die verschiedenen Hefen einer Versuchsreihe untereinander vergleichen, so müssen wir uns die oberen, mittleren oder unteren Horizontalen zusammengestellt denken. Die Endpunkte der Horizontalen jeder Hefe sind durch punktierte Linien verbunden, die uns einen schnellen Überblick über die Abweichungen in den Resultaten gewähren sollen.

Erläuterung zu No. 67—90. Die ungraden Nummern von 67—90 gehören der Versuchsreihe vom Februar 1890 an.

Die graden Nummern (die Horizontallinien hier mit Schrägstrichen an den beiden Enden) der vom Februar 1891. Die Gärungen der letzteren sind gleichzeitig unterbrochen worden. Die punktierten Linien verbinden die Endpunkte der beiden Horizontalen, welche zu je einer Hefe gehören. Zur näheren Erläuterung zwei Beispiele: In No. 67 hat Hefe 77 (erste Versuchsreihe vom Februar 1890) bis 5,4 % B. vergoren und eine Hefenernte von 9,3 g ergeben, in No. 68 (zweite Versuchsreihe vom Februar 1891) in derselben Würze bis 4,7 % vergoren und eine Hefenernte von 18 g ergeben. In den Nummern 75 und 76 hat Hefe 80 ergeben: 4,66 % B. und 16,2 g Hefe, resp. 4,95 % B. und 16 g Hefe.

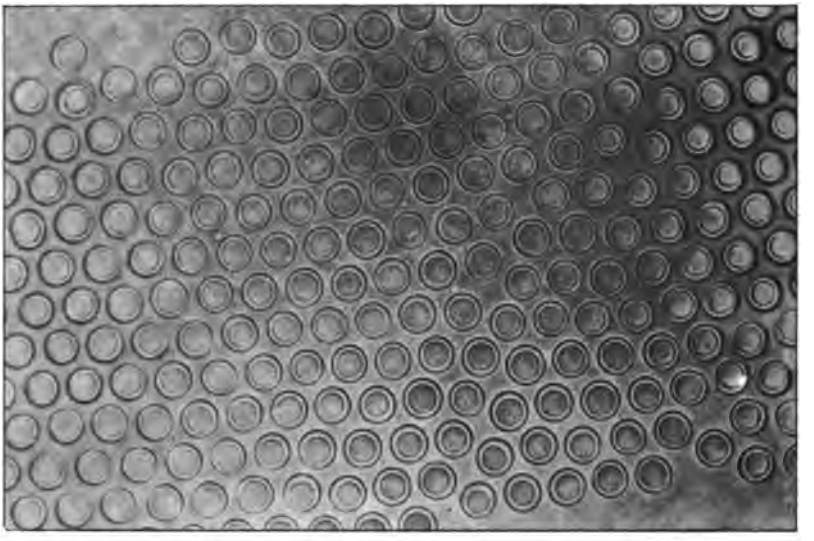


Abbildung 1.
Torula pulcherrima. Tröpfchenkultur. 600fach.

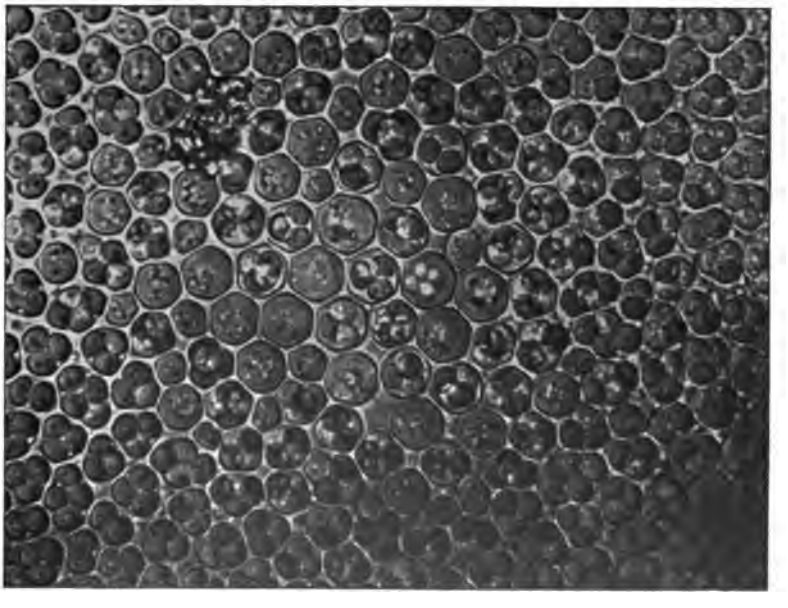


Abbildung 2.
Sporenbildung bei einer Hefe aus dem Schleimfluss einer Eiche.
Adhäsionskultur. 1250fach.

Verlagsbuchhandlung Paul Parey in Berlin SW., Hedemannstrasse 10.

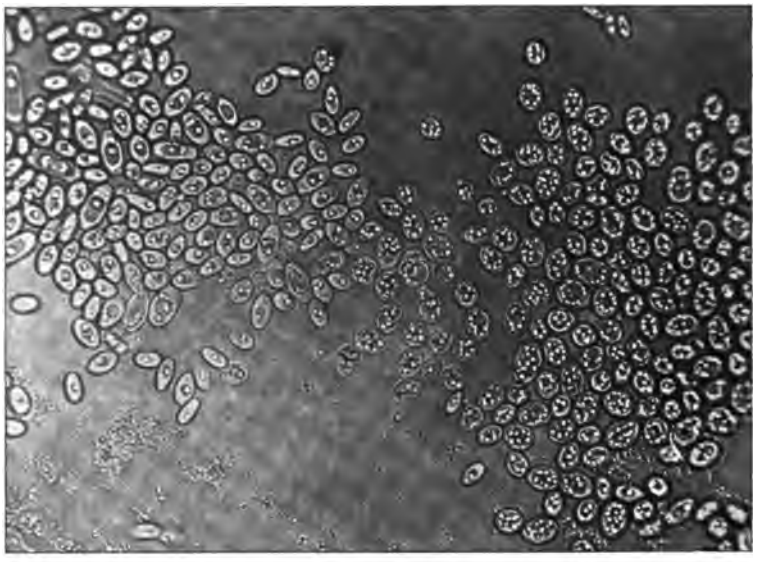


Abbildung 1.
Zwei verschiedene Hefen aus einer Presshefe in der Adhäsionskultur neben einander gewachsen. 600fach.

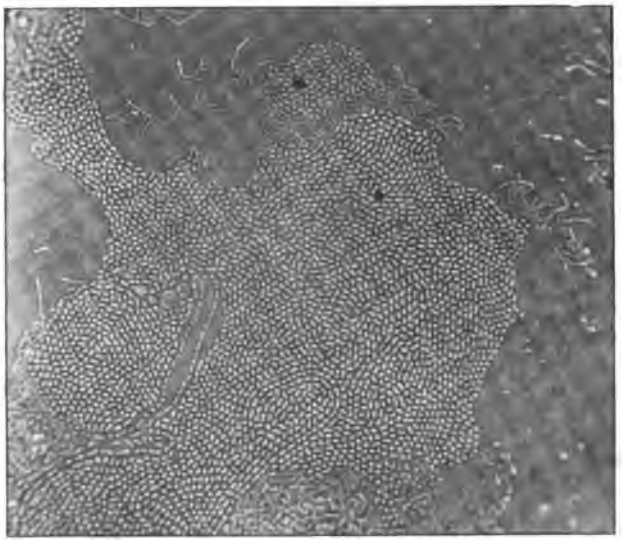


Abbildung 2.
Essigsäure- und Milchsäurebakterien aus einer amerikanischen Presshefe. Adhäsionskultur. 600fach.

Verlagsbuchhandlung Paul Parey in Berlin SW., Hedemannstrasse 10.

Erklärung zu Tafel III.

Riesenkolonien von verschiedenen Kultur- und wilden Hefen. Überall 6 %ige Würzegelatine. Die Zeitangaben beziehen sich auf die photographische Aufnahme resp. auf das Alter der Kultur.

Untergärige Brauereihefen.	Hefe 6.	Originalhefe Saaz. Dezember 1891.
	„ 19.	Originalhefe Frohberg. Dezember 1891.
	„ 142.	Untergärige Kulturhefe, die in einer Brauerei stets bei höherer Temperatur geführt wurde. 28./11. bis 29./12. 1891.
	„ 429.	Hefe Logos aus einer brasilianischen Brauerei. (4. Reihe rechts.)
Obergärige Brauereihefen.	„ 25.	Obergärige Brauereihefe. 13./5. bis ? 1891.
	„ 35.	Obergärige Weifsbierhefe. 13./5. bis ? 1891.
	„ 183.	Obergärige Brauereihefe (Burton). 28./11. bis 29./12. 1891.
Brennereihefen.	„ 128.	Obergärige Brennereihefe (Rasse II), F.-O.-Typus. 28./11. bis 29./12. 1891.
	„ 129.	Aus derselben Maische wie 128 isoliert; Maltose nicht vergärend.
	„ 86.	Obergärige Brennereihefe. 6./2. bis 30./3. 1892.
	„ 130.	Schwach vergärende Brennereihefe, S.-O.-Typus, aus derselben Maische wie 128 und 129 isoliert. 28./11. bis 10./12. 1891.
Prefshefen.	„ 77.	Prefshefe aus Bayern (Rasse IV). 28./11. bis 29./12. 1891.
	„ 85.	Prefshefe. 6./2. bis 31./3. 1892.
	„ 79α.	Prefshefe. 28./11. bis 29./12. 1891.
	„ 79β.	(= 79α.) Prefshefe, jedoch bei niederer Temperatur (ca. 10° R.) gewachsen. ? bis 1./11. 1894.
	„ 80.	Prefshefe (Rasse I). 28./11. bis 29./12. 1891.
Wilde Hefen aus Bier.	„ 48.	Wilde Hefen aus demselben Bier (Böhmen) isoliert. 1./10. bis 3./12. 1892.
	„ 49.	
	„ 121.	Wilde Hefe aus Bier (Werder, Provinz Brandenburg). 1./10. bis 3./12. 1892.
	„ 235.	Wilde Hefe aus Bier (Frankfurt a. M.). 1./10. bis 3./12. 1892.
	„ 28.	Hefe aus Breslauer Kretschmerbier. 1./10. bis 3./12. 1892.
Torulahefen.	„ 60.	Weifse Torulahefe (Eisleben). 13./5. bis ? 1891.
	„ 61.	Weifse Torulahefe (Rostock). ? bis 13./10. 1890.

Weinhefe 463. 6 Wochen alte Kolonie.

A. Einige Weinhefen aus der Geisenheimer Versuchsstation. Ungefähr 4 Wochen alt. Linke Seite von oben: Nr. 465 (Bordeaux 1893), Nr. 466 (Assmannshäuser 1892), Nr. 467 (Steinberg 1893). Rechte Seite von oben: Nr. 463 (Bari), Nr. 462 (Menes, Ungarn), Nr. 468 (Rauenthaler Berg).

6

19

142

25

35

183

128

129

86

130

77

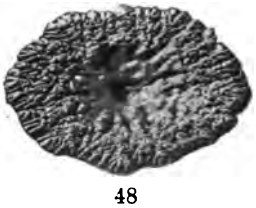
85

79a

79b

80

429

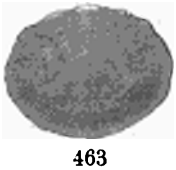

48

A

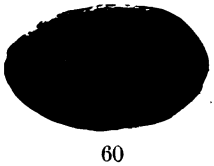
49

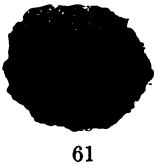
121

235


463

28


60


61

Lichtdruck von Albert Frisch, Berlin W.

Verlagsbuchhandlung Paul Parey in Berlin SW., Hedemannstr. 10.

Erklärung zu Tafel IV.

Riesenkolonien und Kahmhäute von Kahmhefen.

Hefe 59. Kahmhefe aus Bier. 4./11. 1891 bis 1./4. 1892.

„ 67. Kahmhefe aus Prefshefe (Schweden). 13./5. bis 7./6. 1891.

„ 68. Kahmhefe aus Brauerei (Eisleben). 6./11. bis 9./12. 1891.

„ 70. Kahmhefe. 4./11. bis 12./12. 1891.

„ 71. Kahmhefe aus einem Gärkeller-Luftschacht. 13./5. bis 7./6. 1891.

„ 75. Saccharomyces hyalosporus aus Bier. ? bis 13./10. 1890.

„ 102. Kahmhefe aus Bier (Halle a. S.). 13./5. bis ? 1891.

„ 125. Saccharomyces farinosus (Danziger Jopenbier). 13./5. bis 1./6. 1891.

„ 170. Kahmhefe aus Bier (Sachsen). 13./5. bis ? 1891.

„ 313. Kahmhefe aus Bier (Stettin). 12./5. bis 20./6. 1893.

„ 362. Kahmhefe aus einem Lagerfafs (Berlin). Januar 1894.

„ 401. Endoblastoderma liquefaciens (Fischer und Brebeck), aus Meereswasser isoliert. 5./10. bis 25./10. 1894.

„ 82. Kahmhaut (4tägige Kultur). 30./6. bis 3./7. 1893.

„ 252. Kahmartige Hefe aus einem Gärbottich. 6./2. bis 30./2. 1892.

B. Endoblastoderma-Gruppe in einem Kolben gewachsen. Unten links: Endoblastoderma pulverulentum (402); unten rechts: Endoblastoderma amycoides I (397); 2. Reihe links: Endoblastoderma glucomyces III (400); 2. Reihe rechts: Endoblastoderma glucomyces I (399); oberste Kolonie: Endoblastoderma amycoides III (398).

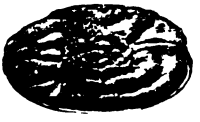
C. Gruppe von Fruchtätherhefen. Nr. 177, 197, 274, 434, 402 auf dünner Gelatineschicht gewachsen. 30./4. bis 20./5. 1897.

59

67

68

70



71

75

102

125

170

313

362

401

82

B

252

C

Lichtdruck von Albert Frisch, Berlin W.

Verlagsbuchhandlung Paul Parey in Berlin SW., Hedemannstr. 10.

Verlagsbuchhandlung Paul Parey in Berlin SW., Hedemannstrafse 10.

Die
Mikroorganismen der Gärungsindustrie.
Von
Alfred Jörgensen.
Vierte, neubearbeitete und vermehrte Auflage.
Mit 56 Textabbildungen.
Gebunden, Preis 8 M.

Stohmann's
Handbuch der Zuckerfabrikation.
Vierte Auflage,
vollständig neubearbeitet von
Dr. A. Rümpler
in Breslau.
Mit 223 Textabbildungen und fünf Tafeln.
Gebunden, Preis 24 M.

Handbuch
der
landwirtschaftlichen Gewerbe.
Von
Dr. C. J. Lintner,
Professor an der Kgl. technischen Hochschule in München.
Mit 256 Textabbildungen und 2 Tafeln.
Gebunden, Preis 12 M.

Grundriss der Bierbrauerei.
Von
Dr. C. J. Lintner,
Professor an der Königl. technischen Hochschule in München.
Zweite Auflage.
Mit 35 Textabbildungen.
Gebunden, Preis 2 M. 50 Pf.

Zu beziehen durch jede Buchhandlung.

Verlagsbuchhandlung Paul Parey in Berlin SW., Hedemannstrafse 10.

Wochenschrift für Brauerei.

Eigentum des Vereins: Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei in Berlin.

Herausgegeben von

Geh. Regierungsrat Prof. **Dr. M. Delbrück.**

XVIII. Jahrgang.

Erscheint jeden Freitag. — Abonnementspreis für den Jahrgang 20 M.

Zeitschrift für Spiritusindustrie.

Offizielles Organ des Vereins der Spiritusfabrikanten in Deutschland, des Vereins der Stärke-Interessenten in Deutschland und der Brennerei-Berufsgenossenschaft.

Unter Mitwirkung von Geh. Regierungsrat Professor **Dr. M. Maercker** in Halle a. S.

herausgegeben von

Dr. Max Delbrück,

Geh. Regierungsrat, Professor, Vorsteher des Instituts für Gärungsgewerbe in Berlin.

XXIV. Jahrgang.

Erscheint jeden Mittwoch. — Abonnementspreis für den Jahrgang 20 M.

Kalender für die landwirtschaftlichen Gewerbe.

Zwanzigster Jahrgang.

Herausgegeben von dem Verein der Spiritusfabrikanten in Deutschland.

1. Teil (Taschenbuch) gebunden.

2. Teil (Jahrbuch) geheftet.

Mit einer halben Seite weiss Papier pro Tag, *in Leinen gebunden, Preis 3 M.*

Mit einer ganzen Seite weiss Papier pro Tag, *in Leder gebunden, Preis 4 M.*

Handbuch der Presshefefabrikation.

Von

Otto Durst,

Fabrikdirektor in Buch bei Nürnberg.

Zweite, neubearbeitete Auflage.

Mit 190 Textabbildungen und 8 Tafeln. *Gebunden, Preis 16 M.*

Der Verfasser, ein anerkannt tüchtiger Praktiker mit langjährigen Erfahrungen, hat in seinem Handbuch das Ganze der Presshefe- und Lufthefefabrikation in eingehender und erschöpfender Weise geschildert. Die neue Auflage ist vollständig umgearbeitet, und bespricht der Verfasser ausser den älteren Verfahren auch eingehend das neue sogenannte Lufthefeverfahren. Kein Praktiker wird dieses Buch entbehren können.

Zu beziehen durch jede Buchhandlung.

Verlagsbuchhandlung Paul Parey in Berlin SW., Hedemannstrafse 10.

Das chemische
Laboratorium des Brauers.

Anleitung zur
chemisch-technischen Betriebskontrolle.
Von
Prof. **Dr. Wilhelm Windisch.**
Vierte, erweiterte Auflage.
Mit 36 Textabbildungen. *Gebunden, Preis 12 M.*

Moritz und Morris.
Handbuch der Brauwissenschaft.

Auf Veranlassung der
Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei in Berlin
ins Deutsche übertragen
von
Prof. **Dr. Wilhelm Windisch.**
Mit 49 Textabbildungen. *Gebunden, Preis 12 M.*

J. Reynolds Green.
Die Enzyme.

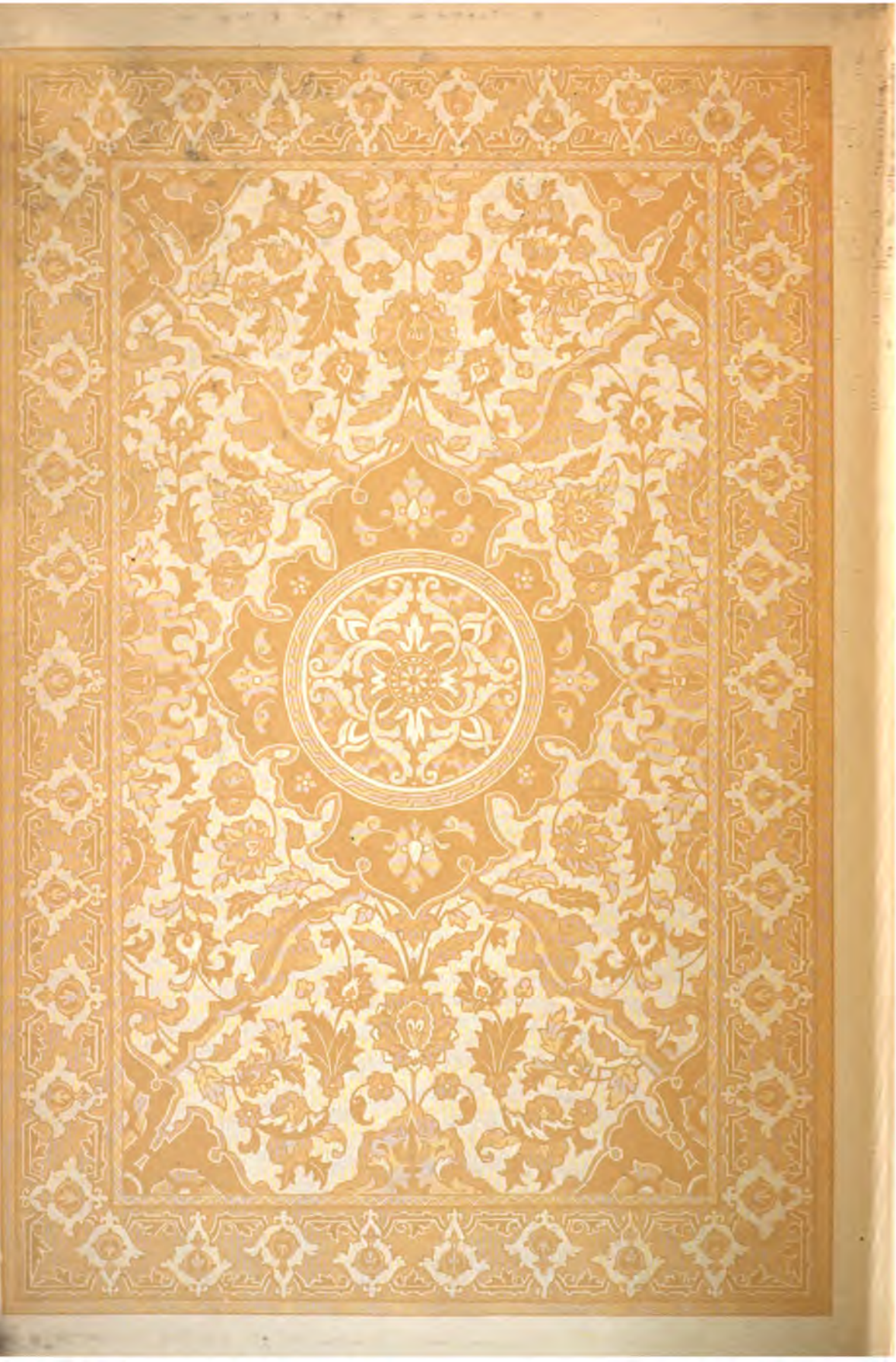
Ins Deutsche übertragen
von
Prof. **Dr. Wilhelm Windisch.**
Gebunden, Preis 16 M.

Anleitung zur Untersuchung
des
Malzes auf Extraktgehalt
sowie auf seine
Ausbeute in der Praxis
nebst Tabellen zur Ermittelung des Extraktgehaltes.
Von
Prof. **Dr. Wilhelm Windisch.**
Dritte Auflage.
Gebunden, Preis 3 M. 50 Pf.

Zu beziehen durch jede Buchhandlung.

COUNTWAY LIBRARY
HC 1H7K V

B.K.1981.2
Mikroskopische Betriebskontrolle 1981
Countway Library BCL1362
3 2044 045 317 492



9.K.1901.2

Harvard University

Library of

The Medical School

The Gift of

Mrs. Ernst.

9.K.1901.2
Mikroskopische Betriebskontroll1901
Countway Library BCL1352
3 2044 045 317 492